



EESTI MAAÜLIKOOL
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Triin Lõhmus

**NAERI-HIILAMARDIKA (*BRASSICOGETHES AENEUS*)
LÕHNAEELISTUSTE KÄITUMISKATSE JA
LÕHNAPÜÜNISE TÕHUSUS**

**BEHAVIOURAL BIOASSAYS WITH POLLEN BEETLES AND
TESTING ODOUR-BAITED TRAPS FOR MONITORING
POLLEN BEETLE ABUNDANCE**

Magistritöö
Maastikukaitse ja -hoolduse õppekava

Juhendajad: dotsent Eve Veromann, PhD
Gabriella Kovács, MSc

Tartu 2018

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Magistritöö lühikokkuvõte	
Autor: Triin Lõhmus		Õppekava: Maastikukaitse ja -hooldus	
Pealkiri: Naeri-hiilamardika (<i>Brassicogethes aeneus</i>) lõhnaelistuste käitumiskatse ja lõhnapüünise tõhusus			
Lehekülgi: 59	Jooniseid: 16	Tabeleid: 7	Lisasid: 3
Osakond: Taimetervise õppetool			
Uurimisvaldkond: 1.6. Põllumajandus; 1.4. Ökoloogia CERCS: B390; B250			
Juhendaja(d): dotsent Eve Veromann, PhD; Gabriella Kovács, MSc			
Kaitsmiskoht ja -aasta: Eesti Maaülikool, 2018			
<p>Naeri-hiilamardikas (<i>Brassicogethes aeneus</i>) on rapsi kui ühe enamkasvatatava ristõielise õlikultuuri arvukaim kahjustaja Euroopas. Tema tõrjumiseks on kasutatud peamiselt püretroididel põhinevaid insektitsiide, mille suhtes on mardikatel praeguseks välja kujunenud resistentsus. Paraku on püretroidipõhised insektitsiidid ristõieliste kultuuride kasvatamisel jätkuvalt kasutusel, mistõttu on keskkonda säästvamate ja jätkusuutlikumate tõrjemeetodite väljatöötamine vajalik.</p> <p>Käesolev magistritöö tugineb naeri-hiilamardika lõhnaelistuste hindamisele. Töö käigus teostati olfaktomeetria katse ja lõhnapüünise katse. Olfaktomeetria katsega testiti hiilamardikate käitumislikke vastuseid erinevate lõhnaainete suhtes ja otsiti sobivat katsemetoodikat olfaktomeetrilistele katsetele. Lõhnapüünise katsega sooviti kindlaks teha püüniste atraktiivsus hiilamardikatele, et pakkuda lihtsat meetodit nende arvukuse ja majandusliku tõrjekriteeriumi hindamiseks rapsi tootmispõllul. Sellest tulenevalt oli töö eesmärk välja töötada usaldatav meetodika hiilamardikatega tehtavatele olfaktomeetrilistele katsetele ning kontrollida alternatiivse tõrjevahendina väljatöötamisel oleva dsRNA preparaadi mõju taimede poolt emiteeritavatele lõhnasignaale ja seega naeri-hiilamardika peremeestaimede otsingukäitumisele. Lisaks oli eesmärgiks selgitada välja lõhnapüünise sobivus hiilamardikate arvukuse seiramiseks talirapsipõllul Eesti tingimustes.</p> <p>Olfaktomeetria katsega leitud usaldusväärsete kontrollkatse variantidena võib emastele soovitada neutraalset katset puhta õhuga ja positiivset katset (72 tunnise nälgimisajaga) hariliku tõlkjaga. Mõlemast soost isenditele sobib negatiivseks kontrolliks lavendliõli. Samuti selgus, et dsRNA preparaat ei mõjutanud hiilamardikate käitumist. Lõhnapüünise katses osutus, et püünised polnud hiilamardikatele selektiivselt atraktiivsed, kuid võiksid sobida nende arvukuse hindamiseks rapsipõllul. Hiilamardikate keskmist arvukust mõjutas ilmastik (päevane keskmine õhutemperatuur, sademed), rapsi kasvustaadium ja katsepõld. Keskmised arvukused olid kõrgeimad 22. mail, vahetult pärast mardikate suuremat migratsiooni põldudele, ja 30. mail, kui rapsitaimed olid jõudnud täisõitsemise kasvufaasi. Lisaks oli arvukus kõrgeim Kuivati rapsipõllul, seega on vajalik rõhutada, et taimekahjurite eduka seire tagab kõigi tootmispõldude hindamine individuaalsetena.</p>			
Märksõnad: naeri-hiilamardikas, olfaktomeeter, RNAi, lõhnapüümis			

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51006		Abstract of Master's Thesis	
Author: Triin Lõhmus		Speciality: Landscape protection and management	
Title: Behavioural bioassays with pollen beetles and testing odour-baited traps for monitoring pollen beetle abundance			
Pages: 59	Figures: 16	Tables: 7	Appendixes: 3
Department: Chair of Plant Health Field of research: 1.6. Agriculture; 1.4. Ecology CERCS: B390; B250 Supervisors: Associate professor Eve Veromann, PhD; Gabriella Kovács, MSc Place and date: Estonian University of Life Sciences, 2018			
<p>The pollen beetle (<i>Brassicogethes aeneus</i>) is one of the most widely spread and destructive pests of cruciferous oilseed crops in Europe. To control this pest mainly pyrethroid-based insecticides have been used to which beetles have developed resistance. Unfortunately, pyrethroid-based insecticides are still used in cruciferous crop production, which is why the development of a more environmentally friendly and more sustainable control method is necessary.</p> <p>This master's thesis is based on the assessment of the odour preference of the pollen beetle. During the work, an olfactometric test and an odour-baited trap test were performed. The olfactometric test was carried out to test the effect of a dsRNA product (currently under development) on the host plant searching behaviour of the pollen beetle. The odour-baited trap test attempted to identify the attractiveness of traps for pollen beetles, in order to provide a simple method for monitoring their abundance in oilseed rape fields. Thereof, the first aim was to test the pollen beetle's behavioural responses to various fragrances in order to find an appropriate method for olfactometric experiments to be able to test whether the dsRNA product affects beetle behaviour. Additionally the aim was to study the suitability of the odour-baited trap to monitor the abundance of pollen beetles in winter oilseed rape under Estonian climatic conditions.</p> <p>According to the results, the dsRNA product did not affect the searching behaviour of pollen beetles. In addition, reliable control test options were found for pollen beetles. For females neutral tests with clean air and positive tests (with 72 hours without feeding) with <i>Bunias orientalis</i> L. (Turkish rocket or warty cabbage) proved to be giving trustworthy results, while lavender oil was suitable as a negative control for specimens of both sexes. The odour-baited traps were found not to be selectively attractive to pollen beetles, still they could be suitable for assessing pollen beetle abundance in oilseed rape fields. The average abundance of pollen beetles was influenced by the weather (average daily air temperature, rainfall), oilseed rape growth stage and the study field. The average abundance was the highest on May 22, which was shortly after the start of the beetle migration to the fields (green bud stage), and on May 30, when the oilseed rape plants had reached the full flowering growth stage. In addition, despite the fields being close to each other, beetle abundance varied significantly among fields, which is why it is necessary to emphasize the importance of monitoring beetle abundance in every field regardless their proximity to each other, before making pest management decisions.</p>			
Keywords: <i>Meligethes aeneus</i> , olfactometer, RNAi method, odour-baited trap			

SISUKORD

Sissejuhatus	6
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE.....	8
1.1 Hiilamardikas kui oluline rapsikahjur	8
1.2 Hiilamardika toitumis- ja sigimiskäitumine	10
1.3 Hiilamardika tõrjemeetodid	11
1.3.1 RNAi meetod	12
1.3.2 Tõuka-tõmba strateegia	13
2. MATERJAL JA METOODIKA.....	15
2.1 Olfaktomeetria katse.....	15
2.1.1 Entomoloogiline materjal	15
2.1.2 T- ja Y-olfaktomeetria katse.....	16
2.2 Lõhnapüümise katse	18
2.2.1 Katsealad	18
2.2.2 Entomoloogilise materjali kogumine	20
2.2.3 Meteoroloogilised tingimused	20
2.3. Andmete statistiline analüüs	24
2.4. Töörühm	24
3. TULEMUSED	25
3.1 Olfaktomeetria katse.....	25
3.1.1 Valimi üldandmed	25
3.1.2 Kontrollkatsed	25
3.1.3 DsRNA katse	30
3.2 Lõhnapüümise katse	31
3.2.1 Valimi üldandmed	31
3.2.2 Hiilamardikate arvukuse dünaamika kuupäevade lõikes	33
3.2.3 Hiilamardikate arvukus katsepõldude lõikes	39
Kokkuvõte	44
Summary.....	46
Kasutatud kirjandus	48
Lisad	55
Lisa 1. Olfaktomeetria katses kasutatud olfaktomeetrid (vastavalt T- ja Y-olfakto- meeter) (fotod: Triin Lõhmus, Kätlyn Kaart).....	56
Lisa 2. Lõhnapüümise katses kasutatud lõhnapüümis (foto: Triin Lõhmus).....	57

Lisa 3. Lõhnapiüünise katse lõhnapiüüniste ja raputuskatse vaatluspunktide asukohad katsepõllul	58
--	----

SISSEJUHATUS

Raps (*Brassica napus* L.) on üks olulisimaid ristöielisi õlikultuure kogu Euroopas (Williams 2010) ja rapsikasvatus on püsinud jätkuvalt tõusutrendis. Näiteks oli 2016. aastal rapsi kasvupind ligi 8,12 miljonit hektarit ja saagi suurus ulatus 22,3 miljoni tonnini (Crops 2018). Arvestades haritava maa hulka Eestis, on rapsikasvatuspindala siin saavutanud umbkaudu oma maksimaalse suuruse. Kui 2004. aastal oli rapsikultuuridega hõivatud kasvupind 50,4 tuhat hektarit, siis 2017. aasta andmete kohaselt oli sama näitaja tõusnud juba 73,8 tuhande hektarini (PM031: Põllukultuuride kasvupind... 2018). Suurimad rapsikasvatusmaad Euroopas on Prantsusmaa, Saksamaa ja Inglismaa, kusjuures nende hulgas levinuim on tali-raps, põhjapoolsemates riikides pigem suviraps. Antud kultuure kasvatatakse enamasti nende kõrge õlisisaldusega seemnete pärast, millest pressitud õli on kasutusel toiduaine-tööstuses, lisaks kosmeetikatarvete, värv- ja määrdainete ning mitmesuguste materjalide, näiteks plastiku valmistamisel. Kõrge toitaine- ja valgusisalduse tõttu on raps hinnatud ka loomasöödana, samuti omab lisaväärtust vahekultuurina külvikorras ning on potentsiaalseks võimaluseks biokütuste tootmisel (Ahuja *et al.* 2010; Williams 2010).

Rapsi kasvupinna suur osatähtsus on loonud head eeldused ristöielistele spetsialiseerunud taimekahjurite arvukuse kasvuks (Cook, Denholm 2008; Hokkanen 2000; Veromann *et al.* 2006). Nii Euroopas kui Eestis on rapsi peamiseks kahjustajaks naeri-hiilamardikas (*Brassicogethes aeneus* Fab. sün. *Meligethes aeneus* Fab.) (Alford *et al.* 2003; Veromann *et al.* 2006). Hiilamardikate tõrjumiseks ja nende arvukuse kontrolli all hoidmiseks on aastaid, paraku rutiinselt ja sageli profülaktiliselt, kahjurite kohalolu kontrollimata kasutatud valdavalt püretroidipõhiseid insektitsiide (Petratiene *et al.* 2008; Williams 2004). Selle tulemusel tekkinud taimekaitsevahendite ülekasutamine on põhjustanud hiilamardikatel resistentsuse väljakujunemise püretroidide suhtes (Hansen 2003; Nauen *et al.* 2012; Slater *et al.* 2011). Samal ajal avaldavad sünteetilised pestitsiidid aga negatiivset mõju ka ülejäänud lüljalgsetele, nende hulgas kahjurite looduslikele vaenlastele, kellel on oluline osa bio-loogilises kahjuritõrjes.

Ehkki püretroide sisaldavad insektitsiidid on ristõieliste kultuuride kasvatamisel senini tähtsal kohal, on tekkinud üha suurenev vajadus keskkonda säästvamate ja jätkusuutlikumate tõrjemeetodite järele. Käesoleva magistritöö käigus teostati kaks eraldiseisvat katset: olfaktomeetria katse ja lõhnapiüünise katse, millega hinnati naeri-hiilamardika lõhna-orienteerumist ja -elistusi. Töö käigus testiti laboritingimustes hiilamardikate käitumislikke vastuseid mitmesuguste lõhnaainete suhtes. Lisaks sellele teostati välikatse, kus hinnati lõhnapiüünise efektiivsust, et leida tõhus, lihtne ja usaldusväärne meetod hiilamardikate arvukuse ja majandusliku tõrjekriteeriumi lävendi määramiseks rapsi tootmispõllul. Sellele tuginedes oli magistritöö eesmärgiks töötada välja sobiv meetodika hiilamardikatega tehtavatele olfaktomeetrilistele katsetele ning seejärel kontrollida RNAi meetodi kui taimekaitse valdkonnas ühe uudse tehnoloogia abil väljatöötamisel oleva dsRNA preparaadi mõju taimede poolt emiteeritavatele lõhnasignaalidele ja naeri-hiilamardika käitumisele. Lisaks oli antud töö eesmärgiks selgitada välja lõhnapiüünise sobivus hiilamardikate arvukuse seiramiseks talirapsipõllul Eesti tingimustes.

Uurimiseesmärgist tulenevalt püstitati järgnevad uurimisküsimused:

1. Kas rapsiõite töötlemine dsRNA preparaadiga muudab hiilamardikate käitumist?
2. Kas lõhnapiüünised sobivad Eesti tingimustes hiilamardikate tõrjekriteeriumi hindamiseks talirapsipõllul?

Töö autor soovib tänada oma juhendajaid Eve Veromanni ja Gabriella Kovács'it, kes olid suureks abiks antud magistritöö valmimisel. Tänuõnad kuuluvad ka Marge ja Madis Ajaotsale, kelle maadel viidi läbi välitööd.

Käesolev magistritöö valmis C-IPM projekti „IPM4Meligethes“ (C-IPM – Coordinated Integrated Pest Management in Europe) ning Haridus- ja Teadusministeeriumi IUT36-2 toetusel.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Hiilamardikas kui oluline rapsikahjur

Hiilamardikas (*Brassicogethes*) on hiilamardiklaste (Nitidulidae) sugukonda ja mardikaliste (Coleoptera) seltsi kuuluv perekond, mis on esindatud 38 liigiga peaaegu kogu Euroopas, Aasias, Põhja-Aafrikas ja Põhja-Ameerikas (Audisio *et al.* 2009). Eestis on kirjeldatud 20 hiilamardika liiki (Hiisaar *et al.* 2002). Neist olulisimad on naeri-hiilamardikas (*Brassicogethes aeneus* Fab. sün. *Meligethes aeneus* Fab.) ja sinepi-hiilamardikas (*Brassicogethes viridescens* Fab. sün. *Meligethes viridescens* Fab.), kes ühtlasi on antud perekonna enamlevinud kahjurliigid ristõielistel õlikultuuridel (Metspalu *et al.* 2011; Veromann *et al.* 2006; Williams 2010).

Rapsikultuuri külvipinna laienemine on Euroopa põhjapoolsematel aladel, sealhulgas Eestis toonud kaasa naeri-hiilamardikate arvukuse märkimisväärse suurenemise (Metspalu *et al.* 2011; Veromann *et al.* 2012). Seevastu on sinepi-hiilamardikate osakaal püsinud võrdlemisi madalana, moodustades antud liikide isendite koguarvust vähem kui 10% (Alford *et al.* 2003; Billqvist, Ekblom 2001; Veromann *et al.* 2006). Mõlemad liigid on univoltiinsed, st neil on aastas üks põlvkond. Lisaks esineb sarnasusi isendite morfoloogilistes tunnustes (Kirk-Spriggs 1996). Naeri-hiilamardika valmik (laius ligikaudu 1,3–1,5 mm ja pikkus 1,9–2,7 mm) on kujult ovaalne ja värvuselt must, sageli sinise või rohelse läikega. Tal on lühikesed kattetiivad, mis tagakeha tippu ei kata. Mardika tundlad koosnevad 11 piululist ja nui 3 kompaktest lülist (Kirk-Spriggs 1996; Williams 2010).

Peamine väline erinevus hiilamardika kahe liigi vahel seisneb isendite jalgade värvuses: kui naeri-hiilamardika jalad on kehaga sarnaselt tumedad pruunid, siis sinepi-hiilamardikal on need täies pikkuses kollakaspunased. Peale selle on sinepi-hiilamardika keskmise jalapaari reieosas eripärane teravik, mis naeri-hiilamardikal puudub (Borg 1996; Büchi 2002; Kirk-Spriggs 1996). Lisaks, naeri-hiilamardikas lahkub kevadel talvitumispäigast, kui päevane keskmine õhutemperatuur on tõusnud 8–10 °C-ni. Seevastu sinepi-hiilamardikas on oluliselt

soojalembesem, sest tema läheb liikvele alles siis, kui õhutemperatuur on kõrgem kui 15 °C (Borg 1996; Free, Williams 1978; Rusch *et al.* 2012).

Hiilamardikad talvituvad noormardikadena rohumaadel, metsatukkades ning hekkides lehekõdu ja taimestiku all (Büchi 2002; Marczali, Nádasy 2006; Rusch *et al.* 2012). Varakevadel talvitumispäigast väljudes läbitakse kõigepealt küpsussööming, mis kestab kuni kolm nädalat ning mil toitutakse erinevatesse sugukondadesse kuuluvate õitsevate taimede õietolmust (Arras 2017; Free, Williams 1978). Temperatuuri tõustes, tavaliselt rapsitaimede roheliste pungade faasis liiguvad mardikad aga põldudele, et otsida ristõielisi taimi, millel paarituda ja muneda. Munemiseks närib hiilamardika emasisend õiepunga põhja kuni 3 mm pikkusega augu, millesse muneb 2–3 muna (Free, Williams 1978; Hervé *et al.* 2015). Munast koorumisest täiskasvanuks saamiseni kulub sõltuvalt õhutemperatuurist kuni üks kuu (Williams 2010).

Kuigi naeri-hiilamardikad kahjustavad nii tali- kui suvirapsi taimi, on kahjustuste tase suurem suvisel õlikultuuril, mida kasvatatakse peamiselt Põhja-Euroopas. Talirapsi kasvatamine Euroopa põhjaosas on seotud riskiga, sest sõltuvalt talvest võivad taimede külmakahjustused olla suured ja on esinenud ka aastaid, kui peaaegu kogu taliraps on hävinenud (E. Veromanni suulised andmed). Seega sobib suviraps paremini Põhja-Euroopa kliimatilistele tingimustele, samas on rohkem ohustatud hiilamardika kahjustustele, sest kahjuri elutsükel ja kultuurtaime areng on võrreldes talirapsiga omavahel ajaliselt paremini sünkroniseerunud (Veromann *et al.* 2006; Williams 2010). Rapsitaimed on hiilamardikate poolt kõige ohustatumad pungade kasvustaadiumis (BBCH 51–59 (Lancashire *et al.* 1991)), mil valmikud kahjustavad õiepungi õietolmust toitumisel. See toob kaasa näritud pungade kuivamise ja varisemise, jättes alles vaid taime püstised varreosad ning põhjustades seemnesaagi võimaliku hävimise kuni 80% ulatuses (Büchi 2002; Nilsson 1987). Kui aga õied rapsitaimedel puhkevad, on õietolm hiilamardikatele kergesti kättesaadav ja olulist kahju enam ei tekitata (Williams, Free 1978).

1.2 Hiilamardika toitumis- ja sigimiskäitumine

Hiilamardikate käitumisharjumused on toitumis- ja paljunemisperioodil erinevad, mistõttu on vajalik teha vahet toidu- ja peremeestaimedel. Toidutaimi, mille hulka kuuluvad paljude sugukondade (nt ristõielised, korvõielised, huulõielised, roosõielised, tulikalised, sarikalised jt) taimeliigid, kasutavad hiilamardikad varakevadisel küpsussöömingul ja talvitumiseelselt ainuüksi toitumiseks. Seevastu paljunemistaimena, millele hiilamardika emasisend muneb, aktsepteeritakse ainult ristõielisi kultuure (Free, Williams 1978; Jönsson *et al.* 2007; Ruther, Thiemann 1997; Veromann *et al.* 2012)

Peremeestaime asukoha kindlaksmääramisel kasutavad hiilamardikad paralleelselt nägemis- ja haistmismeelte abi. Nägemisorientiiridena meelitavad neid ristõielistele õlikultuuridele eelkõige õite kollane, vähesemal määral valge värvus (Cook *et al.* 2013; Döring *et al.* 2012; Giamoustaris, Mithen 1996; Jönsson *et al.* 2007). Nägemisaistingute kaudu saavad hiilamardikad informatsiooni peamiselt objekti suuruse, kuju ja värvi, sh heleduse kohta (Williams, Cook 2010). Varasemalt teostatud elektrofüsioloogiliste katsete tulemuste kohaselt on alust arvata, et mardikad on võimelised nägema ka valguse neid spektriosi (nt ultraviolettkiirgust), mida inimsilm ei erista. Lisaks on neile atraktiivsemad sellised värvid, mille kiirgus peegeldub enim ja mis paistavad kõige heledamana (Cook *et al.* 2013; Döring *et al.* 2012). Seega võiks arvata, et hiilamardikad eelistavad kollast, aga ka valget värvust just nende kõrge peegeldumisvõime ja heleduse tõttu.

Peale nägemisaistingute mõjutavad hiilamardikate käitumislikke valikuid ka võimalikud lõhnasignaalid, mida saadakse tundlates olevate meelelundite abil (Borg 1996). Neile on atraktiivsed nii taimede õitest ja pungadest kui ka rohelistest osadest eraldunud lõhnad, sh eriti ristõielistele iseloomulikud spetsiifilised isotiotsünaatide lõhnad. Viimased pärinevadki taimede rohelistest osadest ja ühtlasi on need antud sugukonnale omased sekundaarsed kaitseühendid, mis kaitsevad enamiku taimetoiduliste lülilalgsete eest (Cook *et al.* 2002; Evans, Allen-Williams 1994; Ruther, Thiemann 1997; Smart, Blight 2000; Williams, Cook 2010).

Õied ja taime rohelised osad emiteerivad keerulise koostisega ühendeid, mis moodustavad koos teiste lõhnadega põllul keerulisi kombinatsioone erinevatest lõhnaainetest (Cook *et al.*

2002; Williams, Cook 2010). Lõhnaained on hiilamardikatele seejuures paremini tuntavad pigem taimede vahetus läheduses võrreldes pikemate vahemaadega, sest tõenäoliselt kaugematel distantidel lõhnaainete koosseis lahjeneb ja hajub ning seetõttu jääb rist-õielistele iseloomulike ühendite osatähtsus lõhnabuketis liiga väikeseks (Borg 1996). Seega sigimiseks sobiva peremeestaime suudavad putukad eristada ja üles leida eelkõige taimede poolt eritatud eriomaste lõhnade järgi (Cook *et al.* 2002; Mauchline *et al.* 2005; Williams, Cook 2010). Samas, kuigi tolmutate ja õietolmu lõhnade osakaalud on teistega võrreldes madalamad, on needki keemilise koostise poolest äratuntavad. Seetõttu pole välistatud, et peremeestaime asukoha kindlaksmääramisel kasutavad hiilamardikad orientiirina ka õietolmu kui neile olulise valguallika lõhna (Dobson 1994; Dobson *et al.* 1996).

1.3 Hiilamardika tõrjemeetodid

Rapsikultuuri kasvupinna laienemisega on hiilamardikatele, kuid ka teistele ristõielistele spetsialiseerunud taimekahjuritele loodud soodsad toitumis- ja paljunemistingimused (Cook, Denholm 2008; Hokkanen 2000). Sellest tulenenud monokultuursus ja külvikorrasüsteemide üldine lihtsustumine taimekasvatustes on tekitanud olukorra, kus rapsikahjurite arvukuse kontrollimisel on keerukate tõrjestrategiate asemel kasutusele jäänud eelkõige sünteetilised pestitsiidid (Barzman *et al.* 2015; Williams 2004). Hiilamardikaid on õlikultuuride saagikuse kaitsmiseks viimase ligi kahekümne aasta jooksul tõrjutud, enamasti rutiinselt ja profülaktiliselt, püretroidipõhiste insektitsiididega. Liigne sõltuvus keemilistest ühenditest ja järjepidev taimekaitsevahendite kasutamine on põhjustanud aga kahjurite laialdase resistentsuse väljakujunemise enamkasutatavate mürgkemikaalide, hiilamardikate puhul eelkõige püretroididel põhinevate insektitsiidide suhtes. Enamgi veel, toimides liikide suhtes mitteselektiivselt, avaldab pestitsiidide ülekasutamine kahjulikku mõju peale hiilamardikate ka bioloogilist kahjuritõrjet reguleerivatele kahjurite looduslikele vaenlastele (Cook, Denholm 2008; Nauen *et al.* 2012; Petraitiene *et al.* 2008; Slater *et al.* 2011; Williams 2004). Et püretroide sisaldavad pestitsiidid on taimekahjurite arvukuse kontrollimises senini olulisel kohal, on täiendavad tõrjemeetodid alternatiivsete ja ühtlasi keskkonnahoidlikumate lahenduste vähesuse tõttu seega esmatähtsad. Järgnevalt on kirjeldatud kahte alternatiivset meetodit: neist esimene on uus RNAi tehnoloogia ja teine on „tõuka-tõmba“ strateegia, mis leidis kasutust juba üle 30 aasta tagasi.

1.3.1 RNAi meetod

Taimekaitse valdkonnas on rakendust leidmas molekulaargeneetika teadussaavutused, kus kahjurite tõrjumisel kasutatakse ühe meetodina RNA vaigistamist ehk interferentsi (i.k. RNA interference) (Allen 2017). RNA interferents (RNAi) on tehnoloogia, mille eesmärk on tuvastada kahjurputuka sihtgeen, mida tahetakse vaigistada, ja luua sellega homoloogiline kaheaahelaline RNA (dsRNA, i.k. double-stranded RNA) (Senthil-Kumar, Mysore 2010; Zhang *et al.* 2013). Saadud RNA töödeldakse edasi lühemateks, ligikaudu 21–25 nukleotiidist koosnevateks fragmentideks, mida kasutatakse vastavas geenivaigistamise süsteemis (RISC – RNA-induced silencing complex). Seal hargneb RNA kaheks üksik-ahelaks: *guide*-ahelaks, mis säilitatakse RISC koosseisus, ja *passenger*-ahelaks, mis vabastatakse. RISC kompleksi jäänud *guide*-ahel paardub sihtmärgiks oleva mRNA ehk informatsiooni-RNA ahelaga, takistades edasist valgusünteesi ning viies kahjuri liigispetsiifiliste sihtgeenide pärssimiseni ja viimaks isendi hukuni (Allen 2017; Huvenne, Smagghe 2010; Joga *et al.* 2016; Kim, Rossi 2008; Poelchau *et al.* 2016; Terenius *et al.* 2011; Younis *et al.* 2014; Zhang *et al.* 2013).

Sihtgeeni tuvastamise järgselt toimetatakse sobiv kaheaahelaline RNA mikrosüstimise või toidu abil kahjurini. Et mikrosüstimine on teostatav vaid laboritingimustes, kogub populaarsust dsRNA preparaadi kui potentsiaalse geene vaigistava aktivaatori kasutamine putukkahjurile meelepärastel toidutaimedel (Senthil-Kumar, Mysore 2010; Tenllado *et al.* 2004; Zhang *et al.* 2013). Olles olemuselt märgatavalt lihtsam ning madalama tööjõu- ja ressursikuluga, on RNAi-põhine taimekaitse rakendatav nii iseseisvalt kui kombineerituna teiste olemasolevate tõrjelahenduste, näiteks „tõuka-tõmba“ strateegia püüniskultuuride meetodiga (Zhang *et al.* 2013; Zotti, Smagghe 2015). Ehkki sel juhul on ülioluline silmas pidada vaadeldava putukkahjuri käitumis- ja toitumisharjumusi ning välja selgitada tema toitumiseelistused, mõjutab sobivaimal viisil levitatud preparaat kahjuri organismi enim, pakkudes arvestatavat alternatiivi seni kasutatavatele taimekaitsevahenditele (Bautista *et al.* 2009; Joga *et al.* 2016; Younis *et al.* 2014).

Mõistagi on igal tehnoloogial eeliseid, ent teisalt tuleb arvestada ka potentsiaalsete kasutust limiteerivate asjaoludega. RNAi meetodi põhilisem tugevus teiste kõrval on kahtlemata selle liigispetsiifiline lähenemine. Kui suur osa praegustest insektitsiididest hävitavad lisaks sihtkahjurile ka neid elusorganisme, kes antud taimekultuurile kahjulikud pole, võimaldab

RNAi tehnoloogia luua preparaadi, mis avaldab negatiivset mõju vaid konkreetsele putukaliigile (Joga *et al.* 2016; Whyard *et al.* 2009; Zhang *et al.* 2013). Seejuures pole aga vajalik kahjureid tingimata hukata. Näiteks vaigistades feromooni tuvastavad retseptorid, takistab see putuka toitumis- ja paljunemisprotsessi, hoides sel viisil taimekahjurite arvukust kontrolli all (Turner *et al.* 2006; Zhao *et al.* 2011).

Vastukaaluks antud meetodi tugevustele on täheldatav RNAi tehnoloogia tulemuslikkuse sõltuvus nii mõnestki olulisest faktorist. Varasemates katsetes on viidatud, et dsRNA mõjutab putukkahjurite käitumist vaid kõrgete kontsentratsioonide puhul. See eeldab aga preparaadi kasutamist suurtes kogustes, osutudes pikas perspektiivis praegustest sünteetilisest pestitsiididest märkimisväärselt kulukamaks (Joga *et al.* 2016; Terenius *et al.* 2011; Zotti, Smagghe 2015). Seega, arvestades majanduslikku tasuvust, oleks antud preparaadi kombineerimine teiste tõrjelahendustega, sh just „tõuka-tõmba“ strateegiaga igati sobilik. Ent lisaks võivad mõju avaldada ka dsRNA fragmentide pikkus ja nukleotiidide järjestus, samuti konkreetse taimekahjuri arengujärk, kusjuures ohustatud on pigem noorjargus olevad putukad. Sellegipoolest on tegemist vaid mõnega võimalikest limiteerivatest teguritest ning kuigi RNAi meetod on andnud edukaid tulemusi, eeldab antud tehnoloogia praktikasse kasutuselevõtt rohkesti täiendavaid uuringuid, muuhulgas mõju mitte-sihtmärk organismidele (nt kasulikele lüljalgsetele) (Huvenne, Smagghe 2010; Zhang *et al.* 2013).

1.3.2 Tõuka-tõmba strateegia

Hiilamardikate tõrjumises on ühe võimalusena kasutusel „tõuka-tõmba“ strateegia. Termin „tõuka-tõmba“ (i.k. „push-pull“; eesti keeles kasutatakse ka terminit „peleta-meelita“) võeti integreeritud taimekaitse strateegiana esmakordselt kasutusele 1987. aastal, mil Pyke'i ja teiste uurimisaluseks objektiks sai atraktantsete (meelitavate/tõmbavate) ja repellentsete (peletavate/tõukavate) lõhnaainete üheaegne kombineerimine öölaste perekonda kuuluvate isendite tõrjeks. Ajendatuna insektitsiidide kasutamise vähendamise vajadusest põllumajanduses, on antud strateegiat viimaste aastakümnete jooksul märgatavalt arendatud ja täiendatud (Cook *et al.* 2007a). Sellele vaatamata on süsteem rakendust leidnud, sh edukaid tulemusi andnud vaid väheste läbiviidud katsete puhul, põhjuseks tõenäoliselt vähene teadlikkus putukkahjuri bioloogilistest omadustest ning vastastikusest koosmõjust taimekultuuri ja looduslike vaenlastega (Khan, Pickett 2008; Mauchline *et al.* 2013).

Sisuliselt koosneb „tõuka-tõmba“ tõrjesüsteem kahest samaaegselt toimivast osast. Tõuka (push) komponendi eesmärk on taimekahjuri haistmis- ja nägemismeeletega manipuleerides tõrjuda neid seeläbi põhikultuurilt eemale ning meelitada ligi kahjurite looduslikke vaenlasi ja parasitoide (Cook *et al.* 2007a; Eigenbrode *et al.* 2016; Pickett *et al.* 1997). Et mõjutada kahjuri orienteerumisvõimet ja muuta kasvatatav kultuur eemaletõukavaks, kasutatakse nii otseseid kui kaudseid meetmeid: töödeldakse taimi peletavate ühendite või feromoonidega, külvatakse põhikultuuri vahele vähem atraktiivseid taimeliike, luuakse füüsilisi barjääre, mõjutatakse taime kasvu, manipuleeritakse külviajaga jne (Cook *et al.* 2007a; Khan, Pickett 2008; Mauchline *et al.* 2013; Pickett *et al.* 2014). Süsteemi tõmba (pull) osa ülesanne on põhikultuuri kahjurite poolt kõige haavatavamas kasvustaadiumis meelitada putukkahjureid põhikultuurilt majanduslikult vähemväärtuslikule toiduressursile, nn püünistaimedele, mida kasvatatakse põhikultuuri vahetus läheduses (Eigenbrode *et al.* 2016; Pickett *et al.* 1997; Shelton, Badenes-Perez 2006). Uuringutes on leitud, et tõmba komponent antud strateegias avaldab suuremat mõju kahjurite käitumisele pigem pikematel vahemaadel, ehkki tähtis roll on ka lühidistantsil, olles osaks taime aktsepteerimise protsessis (Borg 1996; Cook *et al.* 2007a; Eigenbrode *et al.* 2016). Sellest tulenevalt kasutatakse putukate meeleelundite stimuleerimiseks järgnevaid võtteid: töödeldakse taimi atraktantsete lõhnaainete või suguferomoonidega, et soodustada kahjurite koondumist püüniskultuurile, külvatakse kahjuritele atraktiivsemaid ning kiirema ja/või aeglasema kasvuga liike või sorte, paigaldatakse lõhna- ja värvipüüniseid jne (Cook *et al.* 2007a; Hokkanen 1991; Shelton, Badenes-Perez 2006).

2. MATERJAL JA METOODIKA

Käesoleva magistritöö eesmärk oli välja töötada sobiv katsemetoodika hiilamardikatega tehtavatele olfaktomeetrilistele katsetele ja seejärel kontrollida RNAi tehnoloogia abil välja-töötamisel oleva dsRNA preparaadi mõju hiilamardikate käitumisele. Lisaks oli antud töö eesmärk selgitada välja lõhnapüümise sobivus hiilamardikate arvukuse seiramiseks talirapsi-põllul Eesti tingimustes.

2.1 Olfaktomeetria katse

Kontrollimaks, kas väljatöötatav dsRNA preparaat muudab hiilamardikate käitumist, viidi esmalt läbi rida katseid erinevate taimede ja lõhnaainetega, et leida usaldatav neutraalse, positiivse ja negatiivse kontrollkatse metoodika hiilamardikatega tehtavatele olfakto-meetrilistele katsetele.

2.1.1 Entomoloogiline materjal

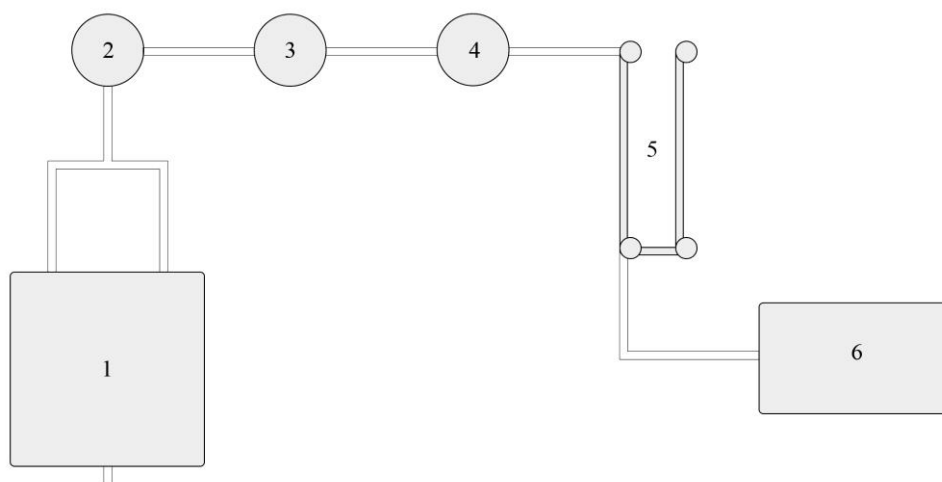
Katses kasutati naeri-hiilamardika valmikuid, kes koguti 2017. aasta mai- ja juunikuus Tartumaa põllumajandusmaastikult. Hiilamardikad koguti nii talirapsilt kui looduslikelt rist-õielistelt taimedelt (kaarkollakas (*Barbarea vulgaris* R.Br. subsp. *Arcuata* M.Loehr), harilik tõlkjas (*Bunias orientalis* L.) jne) raputusmeetodil. Taimede latvu, millel leiti hiilamardika valmikuid, koputati korduvalt vastu plastnõu põhja. Nõusse kukkunud isendid koguti aspiraatori abil kokku ja asetati läbipaistvasse plastikkarpi, mis oli pealt kaetud tiheda, õhku läbi laskva kangaga.

Välitöödel kogutud entomoloogiline materjal viidi laborisse. Seal määrati hiilamardika liigid ja sugu, kasutades hiilamardikate määrajat (Kirk-Spriggs 1996) ning binokulaari Olympus SZX9. Seejärel asetati hiilamardikad vastavalt soole eraldi väikestesse plastnõudesse, mille kaanes oli tiheda vaaalkangaga kaetud õhuava. Et tagada putukatele võimalikult loomulikud

tingimused, vähendada transpordist ja korjamisest tulenenud stressi ning pakkuda neile süüa, lisati karpidesse veega niisutatud vatitükke ja hiilamardikatele meelepäraseid toidutaimi (nt rapsi ja kaarkollaka õied). Putukatega plastnõusid hoiti enne ja pärast katseid kasvukambrites (Panasonic MLR-352H, Healthcare Co Ltd, Japan) 20 ± 2 °C, 60% suhtelise niiskustaseme ning 16 tunnise valguse ja 8 tunnise pimeduse režiimi juures.

2.1.2 T- ja Y-olfaktomeetria katse

Naeri-hiilamardikate käitumist eri lõhnaainete suhtes testiti, kasutades kaht tüüpi olfaktomeetreid: T- ja Y-kujulisi (lisa 1). Need koosnevad omavahel liidetud kolmest klaastorust, T-olfaktomeeter lisaks ühest vertikaalsest torust, mis on kummist elementide abil ülejäänud osadega õhukindlalt ühendatud. T- ja Y-olfaktomeetrite peamine erinevus seisneb nende tööpõhimõttes: T-olfaktomeetris toimub õhu liikumine putuka sisenemise kohast vaadatuna pärisuunas, st putukas liigub kuni torude ristumiskohani puhtas, lõhnata ruumis, misjärel lõhnasignaali tundes peab ta tegema valiku, millises suunas edasi liikuda. Seevastu Y-kujulises olfaktomeetris, kus õhuvool on putuka liikumisele vastassuunaline, puutub ta lõhnaseguga kokku kohe. Seega Y-toru harunemise kohas peab putukas tegema otsuse liikuda kas tugevama lõhnaga või puhta õhuga toruharu suunas. Mõlemad süsteemid koosnevad järgmistest komponentidest: klaastoru, puhastus- ja niisutusseade, söefilter, jagaja ning baromeeter. Õhuvool seades on tagatud õhupumba abil (joonis 1).



Joonis 1. Olfaktomeetria süsteemi skeem (1 – klaastoru, 2 – puhastus- ja niisutusseade, 3 – söefilter, 4 – jagaja, 5 – baromeeter, 6 – õhupump).

Naeri-hiilamardikate lõhnaelistuste hindamiseks viidi läbi neli katset:

- 0-katse: süsteemi lõpposa vasak- ja parempoolne toru on tühi;
- positiivne katse atraktandiga: süsteemi lõpposa vasak- või parempoolses torus paikneb taimne materjal, mis on kirjanduse andmetel ja juhendaja kogemuste põhjal hiilamardikate atraktant (rapsiõis, hariliku tõlkja õis) (Hervé *et al.* 2015; Kaasik *et al.* 2014);
- negatiivne katse repellendiga: süsteemi lõpposa vasak- või parempoolses torus paikneb lavendliõliga (*Lavandula angustifolia*) niisutatud vatitükk, mis on kirjanduse andmetel repellent (Mauchline *et al.* 2005; Pavela 2011);
- põhikatse: süsteemi lõpposa vasak- ja parempoolses torus paiknevad vastavalt dsRNA preparaadi ja veega töödeldud rapsipungad või vastupidi.

Kokku kasutati katses 761 hiilamardikat (tabel 1), kes olid eelnevalt olnud ilma toiduta vähemalt 24 tundi. Põhikatsete variantides kasutati vähemalt 60 naeri-hiilamardika valmikut: katset korraldati nii kaua, kuni valiku olid teinud nii 30 emas- kui 30 isasisendit. Putukad asetati õhustatud hoiustamiskonteineritest ühekaupa keskmisse klaastorusse. Iga isendit jälgiti maksimaalselt viis minutit – selle aja jooksul pidi putukas otsustama, kumba olfaktomeetri haru valida. Kui putukas selle aja jooksul harude suunas ei liikunud, eemaldati ta katsest. Putuka valik arvestati tehtuks, kui isend oli liikunud 2/3 ulatuses T- ja Y-olfaktomeetri hargnemiskohast lõpposa suunas. Päevane korduste arv katsetes oli vähemalt 60. Katsed viidi läbi vastavalt hiilamardika soole, isendid valiti välja juhusliku järjekorra alusel. Pärast eksperimendis osalemist jagati naeri-hiilamardikad viiekaupa toidutaimede ja joogiga varustatud, vastavalt märgistatud, õhuavaga konteineritesse ning asetati vähemalt ööpäevaks kasvukambrisse. Olfaktomeetri klaasist tarvikud puhastati katsete muutmisel (sh sugude vahetus) ja iga katsepäeva lõpus 70% piiritusega.

Tabel 1. Olfaktomeetria katse variandid erinevate lõhnaainetega ja katsetes kasutatud naeri-hiilamardikate koguarvud

Kontroll	Lõhnaaine	Naeri-hiilamardikate arv	
		isased	emased
puhas õhk	puhas õhk	106	65
puhas õhk	rapsiõis	19	0
puhas õhk	hariliku tõlkja õis	90	90
puhas õhk	lõhnapüünise peibutis	31	60
puhas õhk	lavendliõli	60	60
veega töödeldud pungad	dsRNA-ga töödeldud pungad	90	90

Et isaste naeri-hiilamardikate käitumine rapsiõite puhul oli täiesti juhuslik, siis emastega antud katset ei korratud ja neid andmeid edasisel analüüsil ei kasutatud, samuti nagu nende isendite andmeid, kes ei teinud valikut viie minuti jooksul.

2.2 Lõhnapüünise katse

Selgitamaks välja, kas lõhnapüünised sobivad hiilamardikate seiramiseks ja tõrjekriteeriumi määramiseks Eesti tingimustes, viidi läbi kaheosaline katse, mis sisaldas üheaegselt püünistest proovide kogumisega ka samadel rapsipõldudel tehtavat taimede raputuskatset mardikate arvukuse hindamiseks. Antud katse puhul oli tegemist pilootprojektiga.

Lähtudes hiilamardikatele atraktiivsetest haistmis- ja nägemisorientaatoritest, kasutati lõhnakatses erkkollaseid püüniseid CSALOMON® VARb3z+ (Ungari Teaduste Akadeemia Taimekaitse Instituut) (lisa 2), millele kinnitati spetsiaalne rapsiõie lõhna sisaldav lõhnapeibutis. Lisaks asetati püünise külge plastikust eraldusvõrk, et vältida kasulike ja neutraalsete putukate sattumist püünisesse, ning destilleeritud veega täidetud kogumisanum, kuhu kogutud putukad kukkusid.

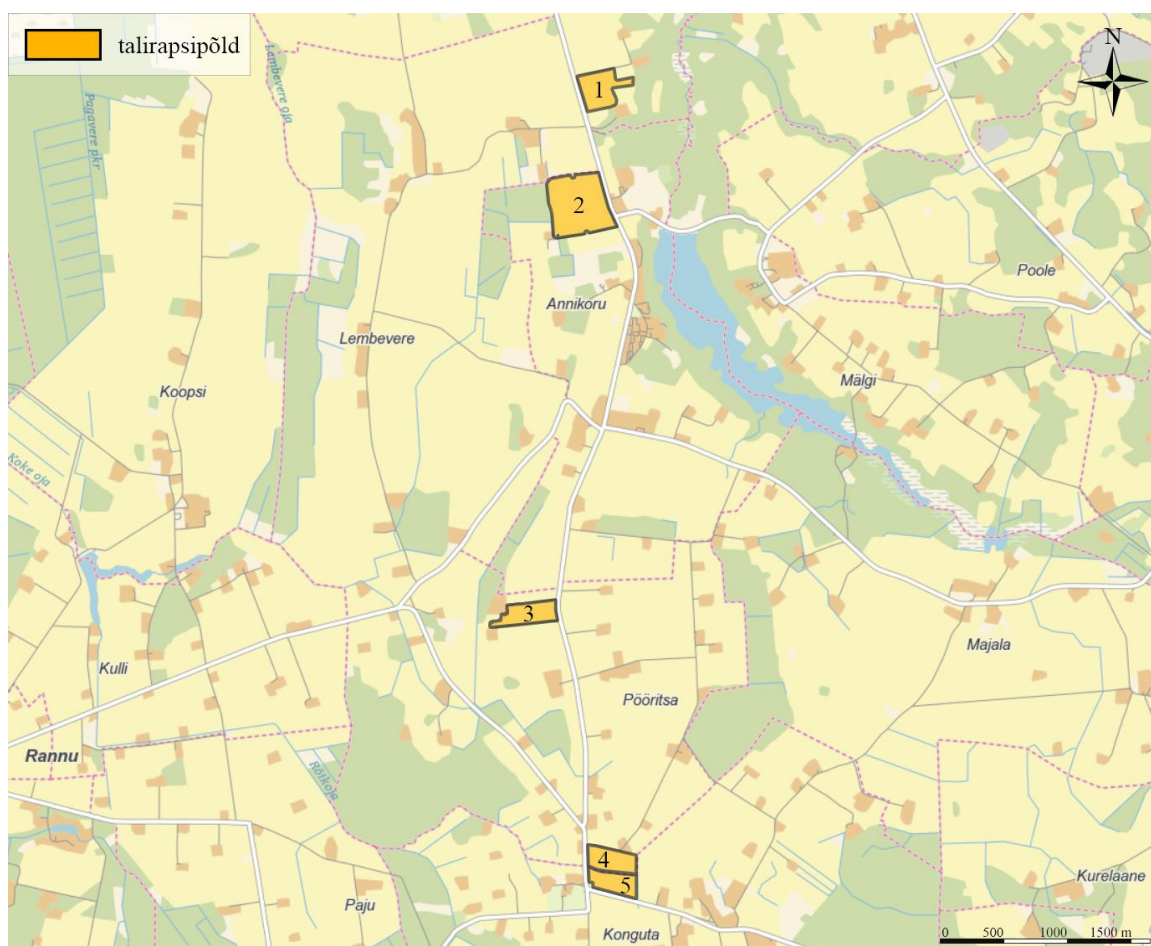
Katse eesmärk oli esmalt kindlaks teha, kas kasutatud püünised toimivad hiilamardika liikidele selektiivselt, nagu tootekirjelduses oli lubatud, ning kas ja millisel määral püünisele paigaldatud lõhnapeibutis erinevaid putukarühmi ligi meelitab. Raputuskatse teostati aga eesmärgiga hinnata samal ajal hiilamardikate arvukust põllul, et seeläbi leida arvukuste suhe põllul ja püünistes olevate mardikate vahel ning võrrelda seda kehtiva tõrjekriteeriumiga. Eksperimendi põhimõtte tervikuna oli välja töötada kergesti rakendatav meetod, mis võimaldaks taimekasvatajatel märkimisväärselt madalama aja- ja tööjõukuluga hinnata hiilamardikate arvukust ning nende tõrjekriteeriumi potentsiaalset ületamist rapsipõllul.

2.2.1 Katsealad

Katseandmed koguti talirapsi tootmispõldudelt 2017. aastal Tartumaal. Katsepõllud asusid valdavalt Tartumaa lääneosas paiknevate suuremate asulate (Puhja, Rannu ja Rõngu)

lähiumbruses, kus tegeleti talirapsikasvatusega. Valik sobivate kultuurpõldude leidmiseks põhines kasvatataval kultuuril ja kokkuleppel põllu omanikuga.

Katsepõlde oli viis (nimedega Kasetalu, Kuivati, Fetka, Suur-Konguta ja Konguta) (joonis 2), kõikidel põldudel kasvatati talirapsi sorti 'Mercedes'. Igale rapsipõllule paigaldati lõhnapiünised viiekaupa (kokku oli katses 25 püünist), mis paiknesid põlluservas ja asusid üksteisest 25 m kaugusel (lisa 3). Püüniste paigaldamine toimus 17. mail 2017. aastal, mil rapsitaimed olid roheliste pungade kasvustaadiumis (BBCH 50–51). Püünised paigaldati rapsitaimede latvade kõrgusele ja kinnitati puidust postide külge nii, et neid oleks võimalik hiljem vastavalt taimede kasvule reguleerida. Püüniste tühjendamine toimus regulaarselt kahel järgneval nädalal nelja päeva jooksul pärast paigaldamist. Kahe nädala möödudes, kui rapsitaimed olid jõudnud õitsemisfaasi (BBCH 64–65), eemaldati püünised põldudelt.



Joonis 2. Lõhnapiüünise katse asukohakaart Tartumaal. Katsepõllud (1 – Kasetalu, 2 – Kuivati, 3 – Fetka, 4 – Suur-Konguta, 5 – Konguta) on kaardil kujutatud oranži värviga.

2.2.2 Entomoloogilise materjali kogumine

Lõhnapiüünistest koguti entomoloogilist materjali neljal korral: 22. mail, 24. mail, 26. mail ja 30. mail. Tühjendamise käigus eemaldati püünise alumises osas paiknev plastikust kogumisanum, milles olevad putukad valati õhulise kangaga kaetud sõelale. Kogutud proovid pakendati õhukindlalt ja märgistati. Kogumisenõu täideti taas puhta veega ja kinnitati püünisele.

Et anda hinnang katsepõllul olevate hiilamardikate arvukusele, teostati samaaegselt püüniste paigaldamise ja tühjendamistega rapsitaimede raputuskatse. Selleks mõõdeti põllu servast keskpaiga suunas viis kaugust: 2, 10, 25, 50 ja 75 m (lisa 3), misjärel valiti igalt kauguselt juhuslikult 10 rapsitaimet, mille peavart koputati kolm korda vastu valge plastknõu põhja. Nõusse kukkunud hiilamardikad loendati ja märgiti üles.

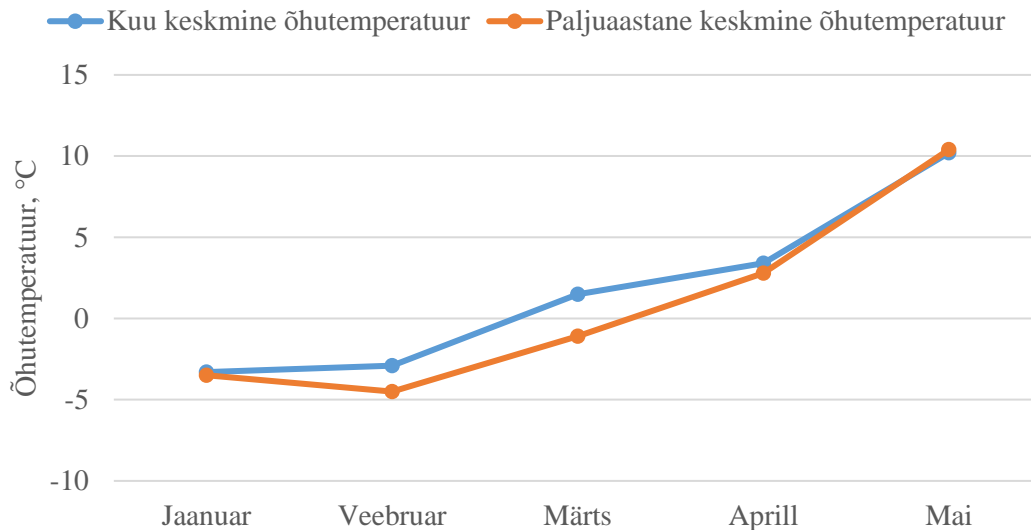
Lõhnapiüüniste abil kogutud entomoloogiline materjal viidi laborisse ja säilitati sügavkülmas kuni edasise määramiseni. Laboris sorteeriti ja määrati järgmised putukarühmad: mardikalised (*Coleoptera*), kärsaklased (*Curculionidae*), jooksiklased (*Carabidae*), kärbselised (*Brachycera*), sääselised (*Nematocera*), ripstiivalised (*Thysanoptera*) ja lühi-tiiblased (*Staphylinidae*). Lisaks neile määrati putukad järgmiste taksoniteni: kiletiivalised parasitoidid (*Parasitica*), erakmesilased, meemesilased (*Apis mellifera* L.), kõdrasääsed (*Dasineura brassicae* Winn.), naeri-lehevaablased (*Athalia rosae* L.), kimalased (*Bombus* sp), maakirbud (*Phyllotreta* sp), peitkärsakad (*Ceutorhynchus* sp) ja hiilamardikad (*Brassicogethes* sp). Hiilamardikad määrati liigini, kasutades binokulaari Olympus SZX9 ja määrajaid „Euroopa putukad“, „Mardikate määraja“ ja „Pollen Beetles: Coleoptera: Kateretidae and Nitidulidae: Meligethinae“ (Kirk-Spriggs 1996). Kõik putukad säilitatakse taimetervise õppetooli laboratooriumi sügavkülmas -20 °C juures edasisteks teadustöödeks.

2.2.3 Meteoroloogilised tingimused

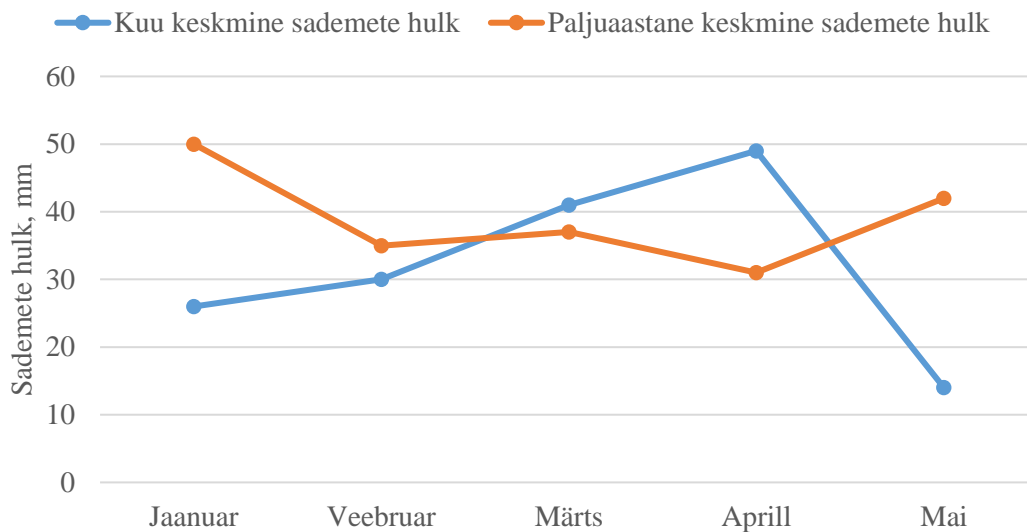
Kuna hiilamardikate arvukus sõltub suurel määral ilmastikutingimustest, kirjeldatakse käesolevas peatükis ka katseaasta ilmastikku.

2017. aasta talv oli hiilamardikatele küllaltki ebasoodne (varieeruv ja kohati väga madal õhutemperatuur ning lumevaesus), mistõttu oli nende talvitumisedukus madal. Jaanuarikuu Eesti keskmiseks õhutemperatuuriks mõõdeti $-2,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, mis oli paljuaastasest keskmisest ($-3,5\text{ }^{\circ}\text{C}$) $1,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ kõrgem. Tartu-Tõravere ilmajaama andmeil oli jaanuari keskmine õhutemperatuur $-3,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (joonis 3) ning miinimumtemperatuur langes lausa $-20,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ni (6. jaanuar). Eesti keskmine sademete hulk 2017. aasta jaanuaris oli seejuures 26 mm (joonis 4), moodustades paljuaastasest keskmisest (50 mm) 52%. Sarnased ilmastikutingimused jätkusid ka veebruarikuus, mil Eesti keskmine õhutemperatuur oli jaanuariga võrreldes isegi mõnevõrra madalam ($-2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$; paljuaastane keskmine $-4,5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Tartu-Tõravere meteoroloogiajaamas mõõdetud keskmine õhutemperatuur oli $-2,9\text{ }^{\circ}\text{C}$ (joonis 3), minimaalne temperatuur aga $-19,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (8. veebruar). Eesti keskmine sademete hulk veebruarikuus oli 30 mm (joonis 4), mis moodustas paljuaastasest keskmisest (35 mm) 83% (Riigi Ilmateenistus 2018a, 2018b).

Meteoroloogilised tingimused olid märtsikuus võrreldes varasemate aastatega aga veidi erinevamad. Eesti keskmiseks õhutemperatuuriks mõõdeti $+1,1\text{ }^{\circ}\text{C}$, mis oli paljuaastasest keskmisest ($-1,1\text{ }^{\circ}\text{C}$) $2,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ kõrgem. Tartu-Tõravere ilmajaama andmeil oli märtsi keskmine õhutemperatuur $+1,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (joonis 3) ja madalaim õhutemperatuur seejuures $-5,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (6. märts). Ka sademete hulk oli eelnevatest aastatest märkimisväärselt kõrgem – 41 mm (joonis 4), moodustades paljuaastasest keskmisest (37 mm) 111%. 2017. aasta aprill tõi hiilamardikatele kaasa taaskord ebasoodsamad tingimused. Kui Eesti keskmine õhutemperatuur aprillikuus oli $+3,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (paljuaastane keskmine $+4,6\text{ }^{\circ}\text{C}$), siis Tartu-Tõravere meteoroloogiajaamas mõõdeti antud väärtuseks $+3,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (joonis 3), seejuures mõõdeti kuu miinimumtemperatuuriks $-8,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (16. aprill). Eesti keskmine sademete hulk oli aprillis 49 mm (joonis 4), mis moodustas paljuaastasest keskmisest (31 mm) 158% (Riigi Ilmateenistus 2018a, 2018b).



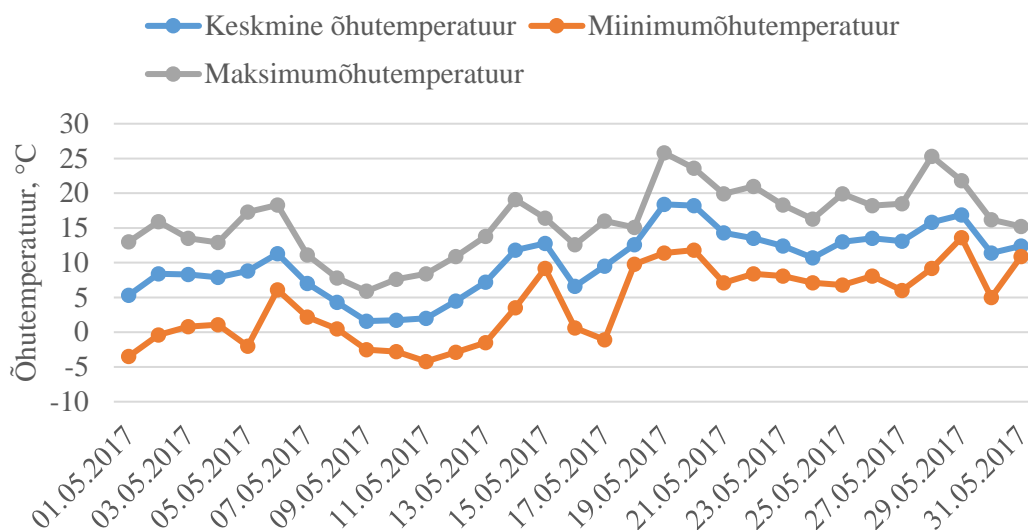
Joonis 3. Jaauuari-, veebruar-, märtsi-, aprilli- ja maikuu Tartu-Tõravere meteoroloogia-jaama keskmiste õhutemperatuuride dünaamika võrrelduna Eesti paljuaastase keskmisega 2017. aastal (Riigi Ilmateenistus 2018a, 2018b).



Joonis 4. Jaauuari-, veebruar-, märtsi-, aprilli- ja maikuu Eesti keskmise sademete hulga dünaamika võrrelduna paljuaastase keskmisega 2017. aastal (Riigi Ilmateenistus 2018b).

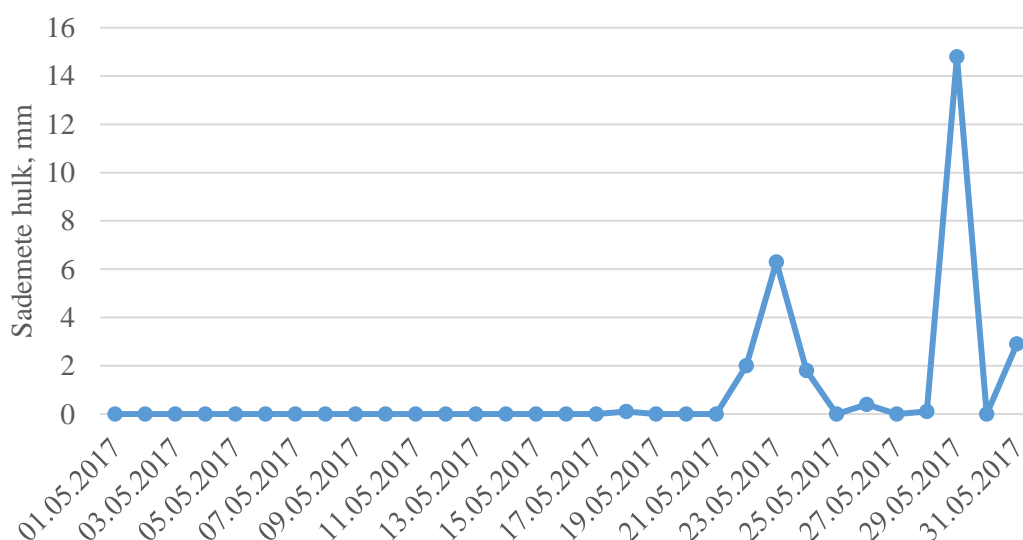
Lõhnapiüünise katse viidi läbi maikuu. Eesti keskmiseks õhutemperatuuriks mõõdeti +9,3 °C, mis oli paljuaastasest keskmisest (+10,4 °C) 1,1 °C madalam. Tartu-Tõravere ilmajaama andmeil oli maikuu keskmine õhutemperatuur +10,2 °C ja miinimumtemperatuur -4,2 °C (11. mai) (joonis 5). Kui mai esimeses pooles tõusis keskmine õhutemperatuur +10 °C-ni

vaid mõnel päeval, tõi kuu teine pool kaasa temperatuuri järsu tõusu (Riigi Ilmateenistus 2018a, 2018b), tagades hiilamardikatele soodsad tingimused talvitumispaigast lahkumiseks.



Joonis 5. Maikuu ööpäevased keskmised, miinimum- ja maksimumtemperatuurid 2017. aastal (Riigi Ilmateenistus 2018a).

Maikuu Eesti keskmine sademete hulk oli 14 mm, mis moodustas paljuaastasest keskmisest (42 mm) 35%. Tartu-Tõravere ilmajaama andmeil oli kuu algus kuiv. Sademeid esines alates 22. maist, ööpäevane sademete hulk oli maksimaalne 29. mail (14,8 mm) (joonis 6) (Riigi Ilmateenistus 2018a, 2018b).



Joonis 6. Maikuu ööpäevane sademete hulk 2017. aastal (Riigi Ilmateenistus 2018a).

2.3. Andmete statistiline analüüs

Katseandmete analüüsimiseks kasutati programme Microsoft Excel 2013 ja Statistica 64 versiooni 13.2 (Statsoft, Inc., USA 2016). Naeri-hiilamardikate käitumist erinevate lõhna-ainete suhtes hinnati binomiaalset jaotust kirjeldava testi põhjal, kasutades T-testi. Hiilamardikate arvukuse erinevusi lõhnapüünistes ja raputuskatses analüüsiti üldistatud lineaarse mudeli (GLZ) statistikuga Wald 3, milles kasutati Poissoni jaotust ja *log*-link funktsiooni, sest katseandmete jaotus ei vastanud normaaljaotusele. Variantide vaheliste erinevuste leidmiseks kasutati *post-hoc* analüüsi (Tukey HSD test, LSD test). Andmed loeti statistiliselt erinevaks, kui $p < 0,05$. Seos lõhnapüüniste ja taimede raputuskatses kogutud putukate vahel leiti regressioonanalüüsi abil.

2.4. Töörühm

Töörühm, mille juht oli Eve Veromann, koosnes lisaks kuuest inimesest: Mona Jahani, Kätlyn Kaart, Gabriella Kovács, Triin Lõhmus, Simon Regonen ja Jonathan Willow. Käesoleva töö autor osales välitöödel, mille hulka kuulusid lõhnapüünise katse tingimustele vastavate rapsipõldude välja valimine, lõhnapüüniste paigaldamine ja nende eemaldamine ning entomoloogilise materjali kogumine. Hilisemad tööülesanded hõlmasid peamiselt välitöödel kogutud materjali sorteerimist, andmete digitaliseerimist ja analüüsimist ning olfaktomeetria katse läbiviimist, sealhulgas katseobjektidele vajalike toidutingimuste tagamist.

3. TULEMUSED

3.1 Olfaktomeetria katse

3.1.1 Valimi üldandmed

Naeri-hiilamardikate käitumisvalikute analüüsimiseks teostati katse kuue katsevariandiga. Katsed viidi läbi sarnastes tingimustes T- ja Y-olfaktomeetriga taimetervise õppetooli putukafüsioloogia laboratooriumis. Katsevariandid 1–5 (tabel 1) olid olemuselt kontrollkatsed, millega testiti hiilamardikate lõhna- ja suunaelistusi ning reageerimist erinevatele meelitavatele (atraktantsetele) ja peletavatele (repellentsetele) lõhnaainetele. Antud katsed olid eelduseks, et hinnata kasutatava meetodika õigsust ja usaldusväärsust ning teostada põhikatse (katsevariant nr 6) väljatöötamisel oleva dsRNA preparaadiga, tegemaks kindlaks, kas preparaadiga töödeldud talirapsipungad mõjutavad hiilamardikate käitumist (st kas taimede lõhnasignaali muutuvad, kui neid on preparaadiga töödeldud).

3.1.2 Kontrollkatsed

Selleks, et kontrollida, kas dsRNA preparaat muudab naeri-hiilamardikate käitumist, tuli esmalt leida sobiv meetodika neutraalse, positiivse ja negatiivse kontrollkatse läbiviimiseks.

Selgitamaks välja, kas hiilamardika emas- ja isasisenditel on eelistusi olfaktomeetri harude suhtes, teostati katse ilma käitumist mõjutavate lõhnaaineteta. Antud katses kasutatud putukad olid olnud ilma toiduta 24 tundi. Tulemused jaotusid mõlema olfaktomeetria süsteemi puhul sarnaselt. Emased mardikad valisid nii T- kui Y-olfaktomeetris võrdselt paremat ja vasakut haru (T-test, $p > 0,05$), seega neil eelistused puudusid ja kontrollkatset sai pidada õnnestunuks. Isased aga liikusid oluliselt rohkem parempoolse toruharu suunas (T-toru: $p < 0,05$; Y-toru: $p = 0,05$), seega olid nad käitumislikult kallutatud ja nende puhul ei saa katset puhta õhuga heaks kontrollkatseks lugeda (tabel 2). Järelikult, kui katse valimis on emased ja isased mardikad segamini, ei ole puhas õhk kontrollina soovitatav.

Tabel 2. Puhta õhuga kontrollkatses (T- ja Y-olfaktomeetriga) parema ja vasaku poole valinud naeri-hiilamardikate koguarvud ning T-testi tulemusena saadud p-väärtused

Olfakto-meetri tüüp	Kontroll (vasak pool)	Lõhnaaine (parem pool)	Naeri-hiilamardikate arv					
			isased			emased		
			vasak	parem	p	vasak	parem	p
T	puhas õhk	puhas õhk	12	22	0,03	17	13	0,11
Y			11	19	0,05	17	13	0,11

Olfaktomeetria katsetest hiilamardikatega, kus kontrollina kasutati puhast õhku, kirjanduses kajastatud ei ole. Kuigi leidis olfaktomeetrilisi eksperimente, milles testiti naeri-hiilamardikate käitumist tuginedes üheaegselt nii lõhna- kui nägemismeelele (Jönsson *et al.* 2007), polnud neis saadud tulemused käesoleva magistritööga läbiviidud katse iseloomu arvestades võrreldavad, sest nägemisaistingutel oli eelnevalt täheldatud oluline mõju mardikate käitumisele. Stelinski ja Tiwari (2013) töid oma uurimuses välja, et hinnates putukate eelistusi ja reageerimist erinevatele lõhnaainetele, on võimalike käitumislake eelistuste kindlakstegemisel katse ilma mõjutavate lõhnaühenditeta esmatähtis. Ent järeldatuna antud töös saadud tulemustest, on sama oluline isendite varasem sooline määramine, nagu Cao jt (2018) artiklis, kus emastel ja isastel eelistusi toruharude puhul ei avaldunud. Kuigi hiljem osutus, et isendid käitusid kogu katse vältel sarnaselt, oli sellegipoolest igati kohane viia esmalt läbi neutraalne katse puhta õhuga, mis võimaldas teha kindlaks mõlemast soost isendite individuaalsed suunaelistused ja hinnata edasisi tulemusi usaldusväärsena. Seega võib spekuloida, et ehkki Cao jt katses puudusid emaste ja isaste vahel olulised erinevused, pole välistatud, et katsetes, kus neutraalset kontrolli ei ole teostatud ning putukate sugu on jäänud määramata, st valimi moodustasid juhuslikult valitud isendid, saadi katse positiivne või vastupidi negatiivne tulemus näiteks teatud soost isendite käitumislaku kallutatuse tõttu.

Positiivse kontrollkatse jaoks viidi läbi katsed rapsiõitega, hariliku tõlkja õitega ja lõhnapüünise peibutisega.

Kasutades Y-olfaktomeetrit, testiti rapsitaimede peibutavat mõju algselt väiksema arvu isenditega. Et katses osalenud hiilamardikate otsustuskiirus oli aga väga madal ja nende valik irregulaarne, st et rapsiõite lõhn ei mõjunud neile võrreldes puhta õhuga meelitavalt, otsustati jätkata positiivse kontrollkatse meetodika väljatöötamist teiste, kirjanduse andmeil hiilamardikatele atraktiivsete lõhnaainetega. Üks põhjus, miks mardikad rapsiõite lõhnale

oluliselt ei reageerinud, võis seisneda selles, et taimede lõhn ei olnud piisavalt tugev ning katses kasutati putukaid, kes olid olnud ilma toiduta maksimaalselt 24 tundi. Seega on võimalik, et mardikatel ei olnud veel kõht tühi ning kuigi kirjanduse järgi on nende nälgimis-aeg enamasti 24 tundi (Cook *et al.* 2002, 2007b), pole see ilmselt siiski piisav.

Järgnevas katses kasutati atraktandina samuti ristõieliste sugukonda kuuluvat harilikku tõlkjat. Erinevalt rapsitaimedest andis katse hariliku tõlkjaga oluliselt paremaid tulemusi. Eeldades, et 24 tundi, mil hiilamardikaid hoitakse söömata, ei ole piisav, katsetati ka isendite erineva nälgimisajaga. Sellest tulenevalt testiti naeri-hiilamardikate lõhnaeelstusi kahe süsteemiga mõnevõrra erinevates tingimustes: T-olfaktomeetriga 72 tundi ning Y-olfaktomeetriga 48 ja 12 tundi pärast isendite toitmist. Saadud tulemuste põhjal võib väita, et tõenäoliselt peavad putukad olema ilma toiduta vähemalt 36–72 tundi, et saada selge vastus toidulõhnale. Katses T-olfaktomeetriga, kui emased olid söömata 72 tundi, eelistasid nad statistiliselt oluliselt hariliku tõlkja lõhna puhtale õhule (T-test, $p < 0,05$), samas kui 48 ja 12 tundi söömata olnud putukate puhul statistiliselt olulist erinevust ei leitud (Y-toru: $p > 0,05$). Isaste mardikate puhul ei leitud statistiliselt olulist erinevust ka siis, kui nad olid olnud ilma toiduta 72 tundi (T-toru: $p > 0,05$), Y-olfaktomeetri puhul pärast 48 tundi nälgimist nad pigem vältisid tõlkja lõhna ($p < 0,05$) (tabel 3).

Tabel 3. Positiivse kontrollkatse käigus (T- ja Y-olfaktomeetriga) harilikule tõlkjale reageerinud naeri-hiilamardikate koguarvud (erinevate nälgimisaegadega) ja T-testi tulemusena saadud p-väärtused

Olfaktomeetri tüüp	Kontroll	Lõhna-aine	Naeri-hiilamardikate arv					
			isased			emased		
			kontroll	lõhna-aine	p	kontroll	lõhna-aine	p
T (72 h söömata)	puhas õhk	harilik tõlkjas	12	18	0,08	7	23	0,002
Y (48 h söömata)			22	8	0,01	14	16	0,14
Y (12 h söömata)			16	14	0,14	14	16	0,14

Pidades silmas mõlemat olfaktomeetrit, pole teada, miks isendite jaotumus puhta õhu ja hariliku tõlkja vahel oli niivõrd erinev. On võimalik, et antud tulemusi mõjutasid katsega

seatud piirangud, sest välitingimustes orienteeruvad hiilamardikad paralleelselt nii lõhna- kui nägemisaistingute abil (Cook *et al.* 2013; Williams, Cook 2010). Samas pole välistatud, et isaste osakaal oleks T-olfaktomeetri puhul olnud atraktandile rohkem suunatud, kui nad oleksid nälginud veel 12 tundi (tendents eelistada tõlkjat oli olemas 72 tunnise nälgimise järel). Emaste tugevam vastus tõlkjale võis olla põhjustatud nii tühja kõhu kui munemistungi tõttu, seega saab emaste mardikate puhul positiivse kontrollina soovitadaagi harilikku tõlkjat.

Lisaks varasemalt katsetatud ristõielistele taimedele (raps, harilik tõlkjas), teostati täiendav eksperiment lõhnapiüümisel kasutatava spetsiaalse lõhnapeibutisega. Et lõhnapeibutus on loodud eesmärgiga imiteerida hiilamardikatele atraktiivsete taimede, antud juhul rapsiõie lõhna ja meelitada seeläbi putukaid paigaldatud piüünistesse, testiti lõhnapeibutise atraktantsust lahjendamata kujul (peibutist ei saanud lahjendada, sest lõhn oli kangasse immutatud) ka Y-olfaktomeetris usaldusväärse positiivse kontrollkatse meetodika välja töötamisel. Katses kasutatud hiilamardikad olid eelnevalt olnud ilma toiduta 24 tundi. Tulemused jaotusid isaste ja emaste vahel erinevalt (tabel 4). Isased mardikad reageerisid olfaktomeetris mõlemale lõhnaainele võrdselt (T-test, $p > 0,05$), st neil puudus eelistatus lõhnapeibutisele ja seetõttu kontrollkatseks antud lõhnapeibutus ei sobi. Emased mardikad seevastu vältisid oluliselt lõhnapeibutist (T-test, $p < 0,05$) ja liikusid pigem puhta õhuga toruosa suunas. Esmaste tulemuste kohaselt oleks katset lõhnapeibutisega võinud emaste hiilamardikate puhul pidada õnnestunuks, sest isendid eelistasid sellele puhast õhku. Samas, kui korrati katset, asetades lõhnapeibutise olfaktomeetri teise toruharusse (kui enne oli lõhnapeibutus paremal, siis korduskatses oli vasakul), siis selles testis emaste puhul statistiliselt olulist erinevust lõhnaainete vahel ei olnud ($p > 0,05$). Vastuoluliste tulemuste tõttu katset T-olfaktomeetriga ei teostatud.

Tabel 4. Positiivse kontrollkatse käigus (Y-olfaktomeetriga) lõhnapiüümise peibutisele reageerinud naeri-hiilamardika isendite koguarvud ja T-testi tulemusena saadud p-väärtused

Olfakto-meetri tüüp	Kontroll	Lõhnaaine	Naeri-hiilamardikate arv					
			isased			emased		
			kontroll	lõhna-aine	p	kontroll	lõhna-aine	p
Y	puhas õhk	lõhna-piüümise peibutus	15	15	0,14	22	8	0,005
			-	-	-	13	14	0,15

Testides atraktandina lõhnapiüünise peibutist, on ebaselge, miks antud katse tulemused sellisel määral varieerusid. Et püünilisel olev lõhnapeibutis peaks hiilamardikatele välingimustes olema atraktiivne pikematel distantidel, pole seetõttu välistatud, et peibutise lõhna kontsentratsioon oli olfaktomeetris liiga tugev. Seega võis eeldatav atraktant muutuda vastupidi repellendiks (Borg 1996; Piesik *et al.* 2013), mis põhjendaks emaste olulist eelistatust puhtale õhule esimeses korduses. Samas pole teada, miks isased esimeses ja emased teises korduses reageerisid lõhnaainetele võrdselt, mitte ei eelistanud ega vältinud lõhnapeibutist. Sarnaselt katsele hariliku tõlkjaga on niisamuti võimalik, et 24 tunnine nälgimisaeg pole kindlate tulemuste saamiseks piisav. Sellegipoolest püünise lõhnapeibutist positiivse kontrollkatse soovitada ei saa.

Negatiivse kontrollkatse käigus teostati katse lavendliõliga.

Antud katses olid hiilamardikad olnud ilma toiduta 24 tundi. Testides isendite lõhnakäitumist antud repellentse lõhnaaine suhtes, vältisid nii emased kui isased mõlema olfaktomeetri puhul (T-test, $p < 0,05$) ülekaalukalt süsteemide lõpposa seda poolt, kus paiknes lavendliõli (tabel 5). Lavendliõli kui hiilamardikatele mitteatraktiivset ühendit on käsitletud ja nende mõju käitumisele analüüsitud mitmes varasemalt läbi viidud lõhnakatses. On leitud, et töödeldes rapsitaimi lavendliõliga, tõrjub antud lõhnaaine hiilamardika isendeid eemale ja vähendab seeläbi kahjurite arvukust põhikultuuril (Mauchline *et al.* 2013, 2005). Seega tulenevalt käesoleva eksperimendiga saadud edukatest ja samuti varasemat kinnitavatest tulemustest, puudus vajadus täiendava katse läbiviimiseks. Lisaks võib lavendliõli kui hiilamardikatele repellentset ühendit soovitada hea negatiivse kontrollina ning seda ka juhul, kui katseobjektide sugu pole eelnevalt määratud.

Tabel 5. Negatiivse kontrollkatse käigus (T- ja Y-olfaktomeetriga) lavendliõlile reageerinud naeri-hiilamardika isendite koguarvud ja T-testi tulemusena saadud p-väärtused

Olfaktomeetri tüüp	Kontroll	Lõhna-aine	Naeri-hiilamardikate arv					
			isased			emased		
			kontroll	lõhna-aine	p	kontroll	lõhna-aine	p
T	puhas õhk	lavendli-õli	25	5	0,0001	24	6	0,001
Y			23	7	0,002	24	6	0,001

3.1.3 DsRNA katse

Eelnevate kontrollkatsete käigus saadud usaldatavad tulemused olid esmatähtsad, et viia läbi eksperiment RNAi tehnoloogia abil loodud, praegu veel väljatöötamisel oleva dsRNA preparaadiga. Järeldades varasemast, et hiilamardikate käitumine ja sellega seotud katse edukus on sõltuv nii katseobjektide soost kui nende nälgimisajast, viidi põhikatse dsRNA-ga läbi siis, kui isendid olid olnud ilma toiduta 72 tundi. Et katse põhieesmärk oli välja selgitada, kas väljatöötataval preparaadil on mõju naeri-hiilamardika isendite käitumisele, teostati katse nii, et olfaktomeetrite mõlemas toruosas paiknesid samalt liigilt pärinevad taimeosad (antud juhul rapsipungad), mis olid töödeldud vastavalt dsRNA preparaadi või destilleeritud veega. Tulemuste kohaselt reageerisid nii emased kui isased T- ja Y-olfaktomeetris mõlemale lõhnaainele võrdselt (tabel 6), st hiilamardikate olulised eelistused kummagi lõhna suhtes puudusid (T-test, $p > 0,05$). Seega võib järeldada, et eksperimentis kasutatud dsRNA preparaat ei mõjuta naeri-hiilamardikate käitumist, mistõttu võib antud katse lugeda õnnestunuks.

Tabel 6. Põhikatse käigus (T- ja Y-olfaktomeetriga) dsRNA-ga töödeldud pungadele reageerinud naeri-hiilamardika isendite koguarvud ja T-testi tulemusena saadud p-väärtused

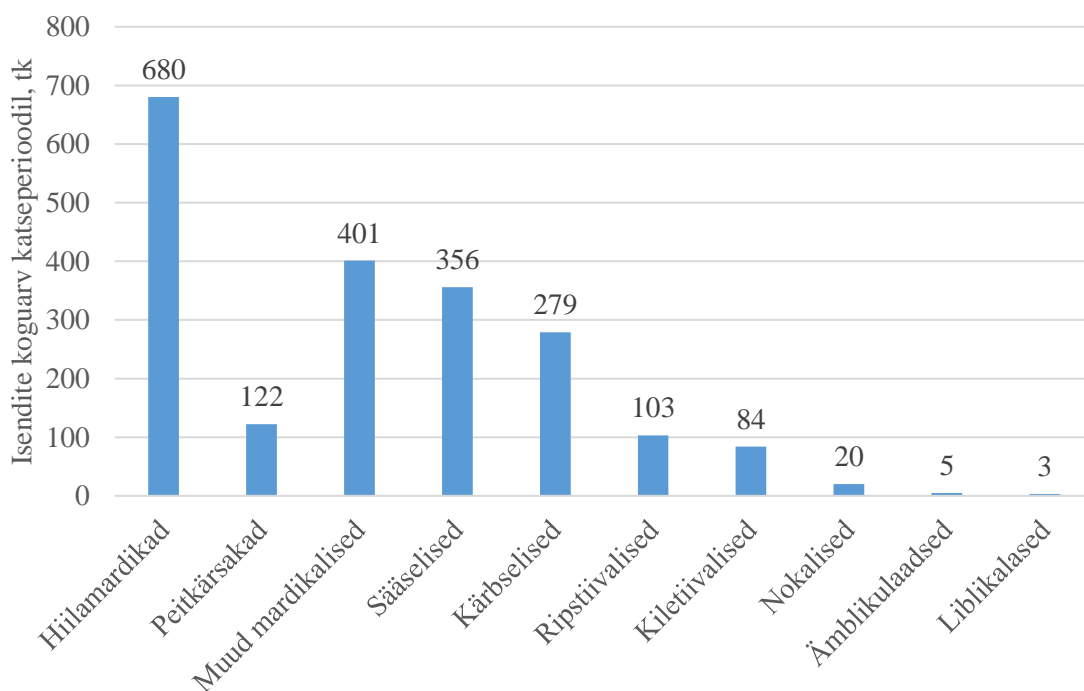
Olfakto-meetri tüüp	Kontroll	Lõhna-aine	Naeri-hiilamardikate arv					
			isased			emased		
			kontroll	lõhna-aine	p	kontroll	lõhna-aine	p
T	veega töödeldud pungad	dsRNA-ga töödeldud pungad	14	16	0,14	17	13	0,11
Y			14	16	0,14	16	14	0,14

RNAi meetodi puhul on tegemist uue ja kiiresti areneva tehnoloogiaga, mis leiab rakendust ka kahjuritõrjes ning võiks integreeritud taimekaitsesse sobida. Ehkki käesolevas töös teostatud eksperiment naeri-hiilamardikate ja dsRNA preparaadiga oli esimene, kus hinnati preparaadi mõju hiilamardikate käitumisele, andis katse positiivse tulemuse ja ühtlasi kinnitas, et preparaat hiilamardikate käitumist ei mõjuta. Kuivõrd mardikad kasutavad peremeestaime otsingukäitumisel lisaks nägemismeeltele ka saadavaid lõhnasignaale (Williams, Cook 2010), oleks antud juhul tõrje edukas siis, kui kahjur ei suudaks preparaadi lõhna taimedel tuvastada. Vastasel juhul peletaks preparaat mardikaid atraktiivsema lõhna-aine poole, mis kokkuvõttes kahjurite arvukust ei vähendaks.

3.2 Lõhnapüünise katse

3.2.1 Valimi üldandmed

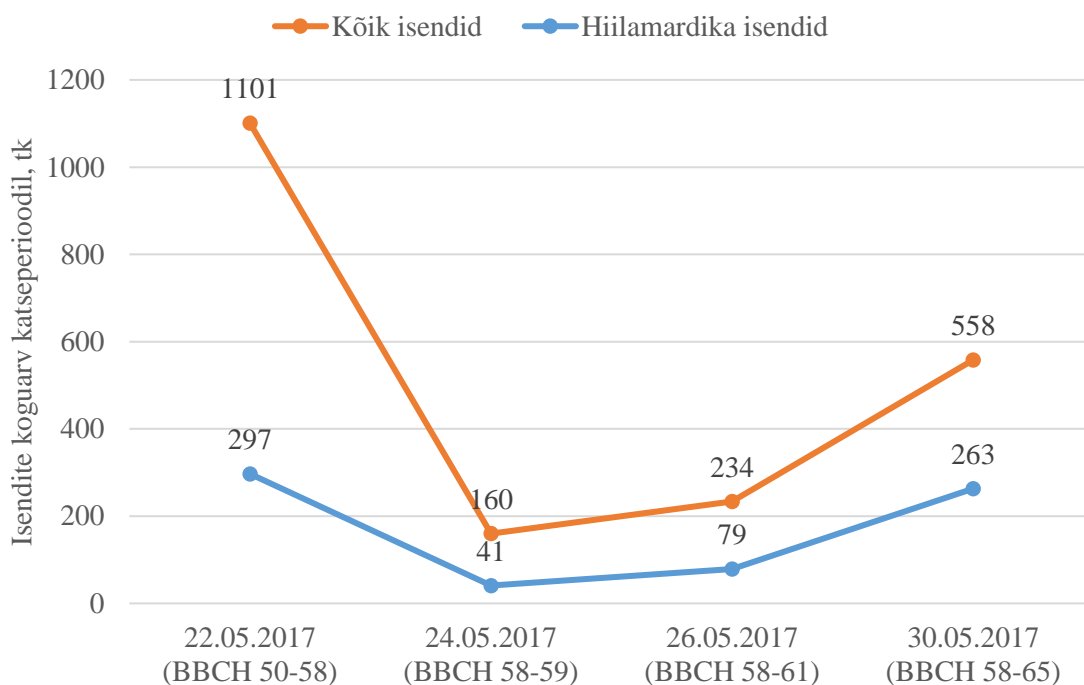
Katseperioodil koguti lõhnapüünistest kokku 2053 putukat, kellest 680 olid hiilamardikad. Neile järgnesid muud mardikalised (401), sääselised (356), kärbselised (279), peitkärsakad (122), ripstiivalised (103) ja kiletiivalised (84). Ülejäänud putukarühmad moodustasid isendite koguarvust väikese osa (joonis 7). Tulemuste põhjal võib järeldada, et katses kasutatud lõhnapüünised polnud selektiivselt atraktiivsed hiilamardikatele, vaid meelitasid ligi ka teisi putukaid. Sellegipoolest ei saa kahelda püüniste efektiivsuses eesmärgiga hinnata hiilamardikate arvukust.



Joonis 7. Lõhnapüünistest kogutud isendite jaotumus ja koguarvud (tk) Tartumaal 2017. aasta maikuus.

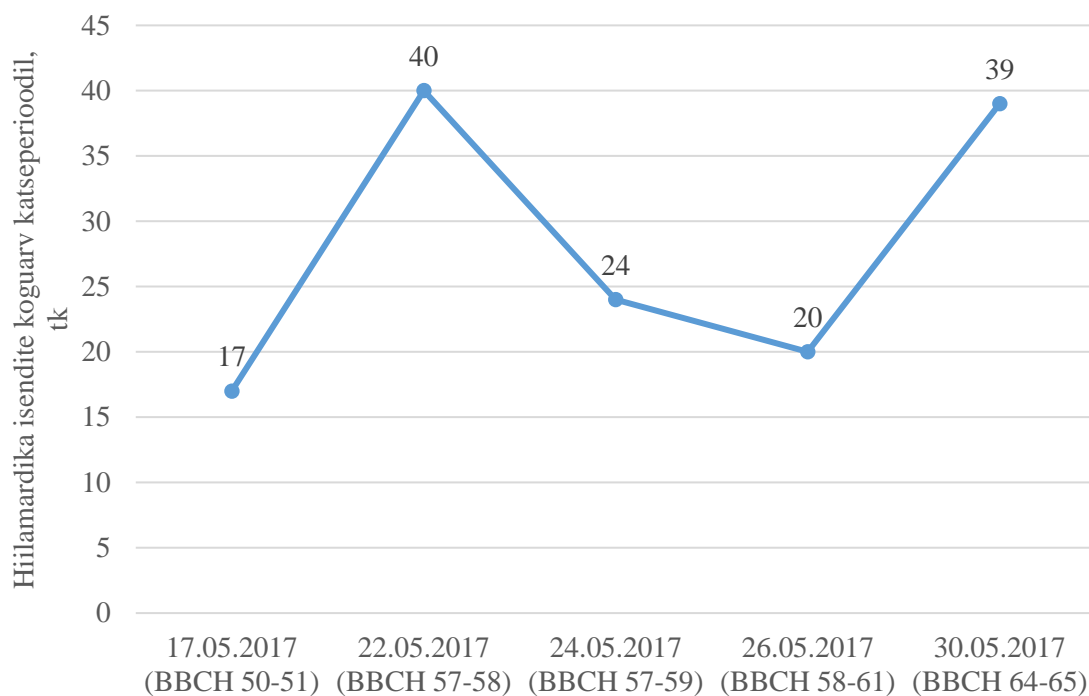
Kuupäevade lõikes oli isendite (kokku 1101), sh hiilamardikate koguarvukus lõhnapüünistes suurim (kokku 297) esimesel püüniste tühjendamise korral (22. mai) (joonis 8), moodustades kõigi putukate hulgast ligikaudu 27%. Kõige vähem leiti isendeid lõhnapüünistest aga järgmisel välitööpäeval (24. mai), mil ka hiilamardikate arv (kokku 41) oli drastiliselt langenud, kuid sellele vaatamata püsis nende osakaal isendite koguarvuga (kokku 160)

võrreldes 26% juures. Kahel viimasel katsepäeval oli täheldatav putukate arvukuse märkimisväärne kasv. Kui 26. mail moodustasid hiilamardikad püünises olnud kõigi isendite hulgast ligikaudu 34%, oli antud suhe 30. maiks tõusnud juba 47%-ni.



Joonis 8. Lõhnapüünistest kogutud kõikide putukate ja hiilamardikate koguarvukuse dünaamika Tartumaal 2017. aasta mais rapsitaimede erinevates kasvustaadiumites (BBCH).

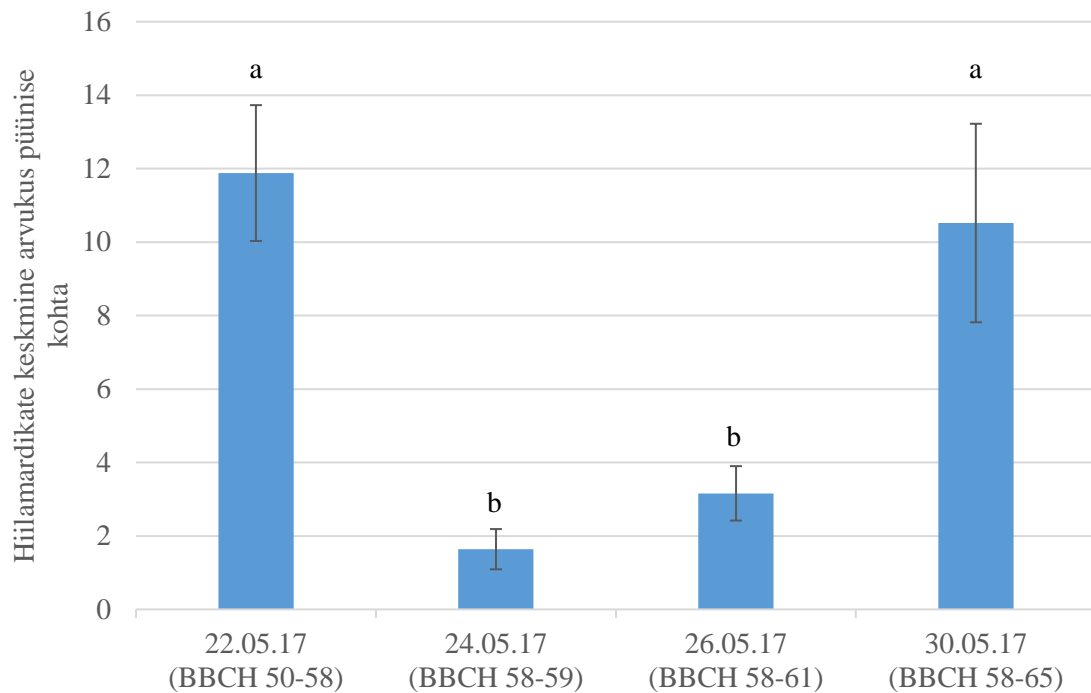
Paralleelselt lõhnapüünise katsega läbi viidud raputuskatsel koguti kokku 101 hiilamardika isendit. Hiilamardikate koguarvukus raputuskatse puhul oli vähim (kokku 17) esimesel katsepäeval (17. mai), rapsitaimede pungade algstaadiumis (BBCH 50–51), kui põldudele paigaldati lõhnapüünised. Seega paigaldati püünised põldudele õigeaegselt, sest hiilamardikate poolt rapsile olulist kahju põhjustav staadium ei olnud veel alanud. Kõige rohkem leiti hiilamardikaid talirapsipõldudelt aga teisel välitööpäeval (22. mai), mil nende arv (kokku 40) oli eelnevaga võrreldes nähtavalt tõusnud. Kahel järgmisel katsepäeval oli märgata hiilamardikate arvukuse järsku langust, 30. mail isendite koguarvukus aga tõusis taas (joonis 9).



Joonis 9. Raputuskatsega kogutud hiilamardika isendite koguarvukuse dünaamika Tartumaal 2017. aasta maikuus.

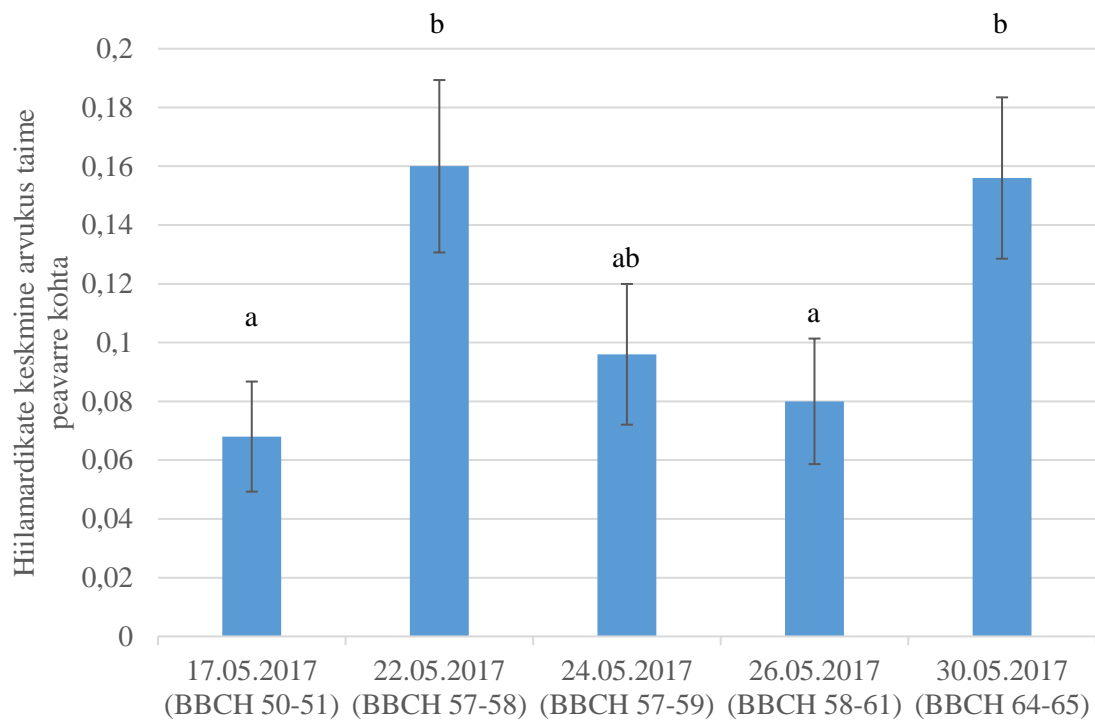
3.2.2 Hiilamardikate arvukuse dünaamika kuupäevade lõikes

Hiilamardikate keskmine arvukus lõhnapüünise kohta erines oluliselt erinevatel kogumise kuupäevadel (GLZ-test Wald3: $\chi^2_{(3)}=233,45$; $p<0,0001$) (joonis 10). Kõige kõrgemad olid keskmised arvukused 22. mail, mil isendeid leiti püünise kohta keskmiselt $11,88 (\pm 1,85 \text{ SE})$, ja 30. mail, kui leiti keskmiselt $10,52 (\pm 2,70)$ isendit, erinedes oluliselt 24. ja 26. mai arvukustest (Tukey HSD test, vastavalt 22. mai: $p=0,0004$ ja $p=0,003$; 30. mai: $p=0,002$ ja $p=0,02$), kui lõhnapüünises oli keskmiselt vastavalt $1,64 (\pm 0,55)$ ja $3,16 (\pm 0,74)$ hiilamardikat.



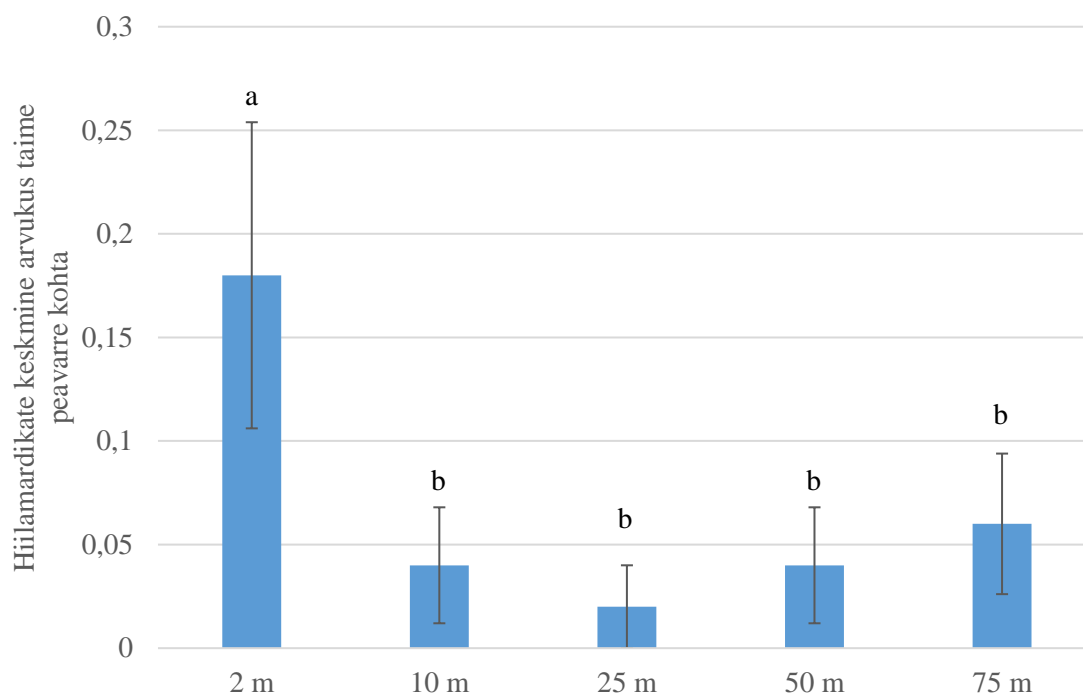
Joonis 10. Hiilamardikate keskmine (\pm SE) arvukus lõhnapiüünise kohta (N=25) erinevatel katsepäevadel ja rapsitaimede kasvustaadiumites (BBCH) Tartumaal 2017. aastal. Joonisel olevad erinevad tähed märgivad olulist statistilist erinevust kuupäevade vahel (Tukey HSD test, $p < 0,05$).

Samal ajal lõhnapiüüniste paigaldamise ja tühjendamistega läbiviidud taimede raputuskatsel selgus, et hiilamardikate arvukus taime kohta oli väga madal, sest keskmine arvukus ulatus maksimaalselt 0,16 putukani taime kohta. Samuti nagu lõhnapiüünistegagi, mõjutas kogumiskuupäev ka raputuskatses oluliselt putukate arvukust (GLZ-test Wald3: $\chi^2_{(4)}=15,95$; $p=0,003$). Sarnaselt lõhnapiüünise katsele olid hiilamardikate keskmised arvukused võrreldes teiste kuupäevadega raputuskatse puhul kõrgeimad 22. mail ($0,16 \pm 0,03$) ja 30. mail ($0,16 \pm 0,03$ hiilamardika isendit rapsitaimede peavarre kohta), mis erinesid oluliselt 17. mai (LSD test, vastavalt $p=0,008$ ja $p=0,01$) ja 26. mai tulemustest (LSD test, vastavalt $p=0,02$ ja $p=0,03$). Samas 17. mail hiilamardikate arvukus ei erinenud oluliselt 24. ja 26. mai arvukustest ($p > 0,05$) (joonis 11).



Joonis 11. Hiilamardikate keskmine (\pm SE) arvukus rapsitaimede peavarre (N=250) kohta erinevatel katsepäevadel ja rapsitaimede kasvustaadiumites (BBCH) Tartumaal 2017. aastal. Joonisel olevad erinevad tähed märgivad statistiliselt olulist erinevust kuupäevade vahel (LSD test, $p < 0,05$).

Et raputuskatset teostati igal katsepõllul viiel kaugusel, analüüsiti lisaks, kas hiilamardikate keskmine arvukus katse kõigil kuupäevadel erines oluliselt kauguste lõikes. Tulemustest selgus, et 22., 24., 26. ja 30. mail kauguste vahel olulisi statistilisi erinevusi ei olnud (LSD test, $p > 0,05$). Küll aga oli märgatav kauguse oluline mõju hiilamardikate arvukusele 17. mai katsepäeval (GLZ-test Wald3: $\chi^2_{(4)} = 9,71$; $p = 0,05$) (joonis 12). 17. mail oli mardikate keskmine arvukus kõrgeim 2 m kaugusel põlluservast ($0,18 \pm 0,07$), mis erines statistiliselt 10, 25, 50 ja 75 m kaugusel saadud tulemustest (LSD test, vastavalt $p = 0,02$; $p = 0,007$; $p = 0,02$ ja $p = 0,04$).



Joonis 12. Hiilamardikate keskmine (\pm SE) arvukus rapsitaimede peavarre kohta ($N=50$) erinevatel kaugustel põlluservast rapsitaimede roheline punga faasis (BBCH 50–51) 17. mail Tartumaal 2017. aastal. Joonisel olevad erinevad tähed märgivad olulist statistilist erinevust kauguste vahel (LSD test, $p < 0,05$).

Üldiselt oli hiilamardikate arvukus 2017. aasta talirapsipõldudel väga madal, mida kinnitavad katseperioodi vältel teostatud raputuskatse tulemused. Seetõttu tõrjekriteeriumit, milleks rapsi roheline ja kollane punga kasvufaasis (BBCH 51–59) loetakse taimede kohta 1–2 valmikut, ei ületatud. Naeri-hiilamardikad lahkuvad talvitumispäigast, kui ööpäevane keskmine õhutemperatuur on tõusnud üle $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja migreerumine rapsipõldudele toimub, kui temperatuur on vahemikus $10\text{--}15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Seevastu sinepi-hiilamardikas läheb liikvele siis, kui õhutemperatuur on üle $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Alford *et al.* 2003; Rusch *et al.* 2012). Tingituna peaaesjalikult ebasoodsatest ilmastikutingimustest katseperioodile eelnenud ajal (madal õhutemperatuur), lahkusid mardikad talvitumispäikadest välja aga tavapärasest hiljem. Kui maikuu esimeses pooles püsis keskmine õhutemperatuur ligikaudu $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures, tõusis see üle $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ alles 18. mail, soodustades rapsitaimede arengut ja hiilamardikate levikut. Et raps sel ajal veel ei õitsenud, mõjutasid putukate lõhnakäitumist ka püünistele asetatud lõhnapeibutised, mis, imiteerides rapsiõite lõhna, meelitasid hiilamardikaid ligi. Seega tulenevalt lisaks soodsatest ilmastikutingimustest, eriti õhutemperatuuri tõusust, oligi nende keskmine arvukus lõhn-püünistes kõige kõrgem esimesel välitööpäeval, 22. mail, millest vahetult enne, rapsitaimede

rohelistele pungade kasvufaasis, oli tõenäoliselt alanud mardikate suurem migratsioon rapsipõldudele (Mauchline *et al.* 2017). Seda tõendavad 17. mai raputuskatse tulemused kauguste lõikes, mille kohaselt oli hiilamardikate keskmine arvukus kõrgeim kõige lähemal, põlluservast 2 m kaugusel asuvas vaatluspunktis. Taolist käitumist on kirjeldanud varem ka Free ja Williams (1979), kes leidsid, et hiilamardikad asustavad esmalt servaalasid, levides seejärel edasi põllule.

24. ja 26. mai välitööpäevadel oli lõhnapiüinistes märgata hiilamardikate arvukuse järsku langust. Kui raputuskatse käigus oli mardikate arvukus kogu katseperioodi jooksul väga madal, vähenes putukate arv lõhnapiüinistes võrreldes esimese päevaga oluliselt. Siinkohal võiks oletada, et antud dünaamika on põhjustatud muutustest meteoroloogilistes tingimustes. Hiilamardikate migratsiooni põllule soodustab pigem soe ja kuiv ilm (Ferguson *et al.* 2015; Mauchline *et al.* 2017; Skellern *et al.* 2017). Et 24. mail ööpäevane keskmine õhutemperatuur aga mõnevõrra langes ning lisaks oli sellel ja eelneval päeval maha sadanud suur hulk vihmavett, tõi see kaasa ebasoodsad ilmastikuolud, mis pärssisid mardikate aktiivsust ega soosinud nende liikumist põllul. Sarnased tingimused kestsid ka 26. mail ja olenemata asjaolust, et antud kuupäeval oli põllul märgata esimeste rapsipungade avanemist, samal ajal emiteerides hiilamardikatele atraktiivsete rapsiõite lõhna, jäi mardikate arvukus piüinistes siiski madalaks. Seega võisid õhutemperatuuri langus ja tugev vihmasedu olla põhjuseks, mis isendite arvukust lõhnapiüinistes teisel, kuid ka kolmandal katsepäeval niivõrd palju mõjutas.

30. mail tõusis hiilamardikate arvukus lõhnapiüinistes ja raputuskatses samale tasemele kui katseperioodi alguses. Ent peale selle, et ilmastik muutus taas soojemaks ja sademete hulk vähenes, jõudsid rapsitaimed antud kuupäevaks täisõitsemise kasvufaasi. Teadaolevalt kasutavad hiilamardikad peremeestaime otsinguil üheaegselt nii nägemis- kui haistmis-meelte abi (Blight, Smart 1999; Jönsson *et al.* 2007; Metspalu *et al.* 2015), saades samal ajal informatsiooni nii objekti värvuse, suuruse ja kuju (Döring *et al.* 2012; Williams, Cook 2010) kui võimalike atraktiivsete ja vähematraktiivsete lõhnasignaalide kohta (Mauchline *et al.* 2005; Ruther, Thiemann 1997; Smart, Blight 2000). Samas, kuigi lõhnaained arvatakse olevat paremini tuntavad pigem taime vahetus läheduses (Borg 1996), võiks spekuloida, et pikematel vahemaadel domineerivad ja meelitavad hiilamardikaid ligi pigem nägemis-orientiirid, misjärel piisavale kaugusele jõudes võimaldavad sobiliku peremeestaime

tuvastada selle poolt emiteeritavad iseloomulikud lõhnaühendid. Siiski on võimalik, et rapsitaimede täisõitsemise ajal on lõhnaainete kontsentratsioon õhus märkimisväärselt kõrgem, seega võisid hiilamardikaid viimaseks katsepäevaks ligi meelitada lisaks põllul domineerivale kollasele värvusele ka õitelt eralduvad lõhnad, mis olid atraktiivsed juba kaugematel distantidel.

Kokkuvõtlikult võib öelda, et hiilamardikate arvukus oli kogu katseperioodi vältel väga madal. Kui lõhnepüünise katses oli mardikate kõrgeimaks keskmiseks arvukuseks püünises 11,88 isendit, siis raputuskatses leiti neid taime kohta maksimaalselt 0,16. Antud väärtus on aga äärmiselt madal ja kuna tõrjekriteeriumiks loetakse taime kohta 1–2 hiilamardikat, siis kriteeriumit katseaastal ei ületatud (tabel 7). Samas saab antud tulemuste põhjal spekulatsioonidele, et kui rapsitaimede pungastaadiumis BBCH 50–58 oleks lõhnepüünises olnud keskmiselt 120 hiilamardikat ja talirapsipõllul samal ajal taime kohta keskmiselt 1,6 mardikat, oleks tõrjekriteerium olnud ületatud. Seda mõistagi juhul, kui keskmiste arvukuste omavaheline suhe oleks positiivses korrelatsioonis.

Tabel 7. Hiilamardikate keskmine arvukus lõhnepüünistes ja raputuskatses talirapsipõllul ning spekulatsioon tõrjekriteeriumiks putukate arvukuse kohta lõhnepüünises

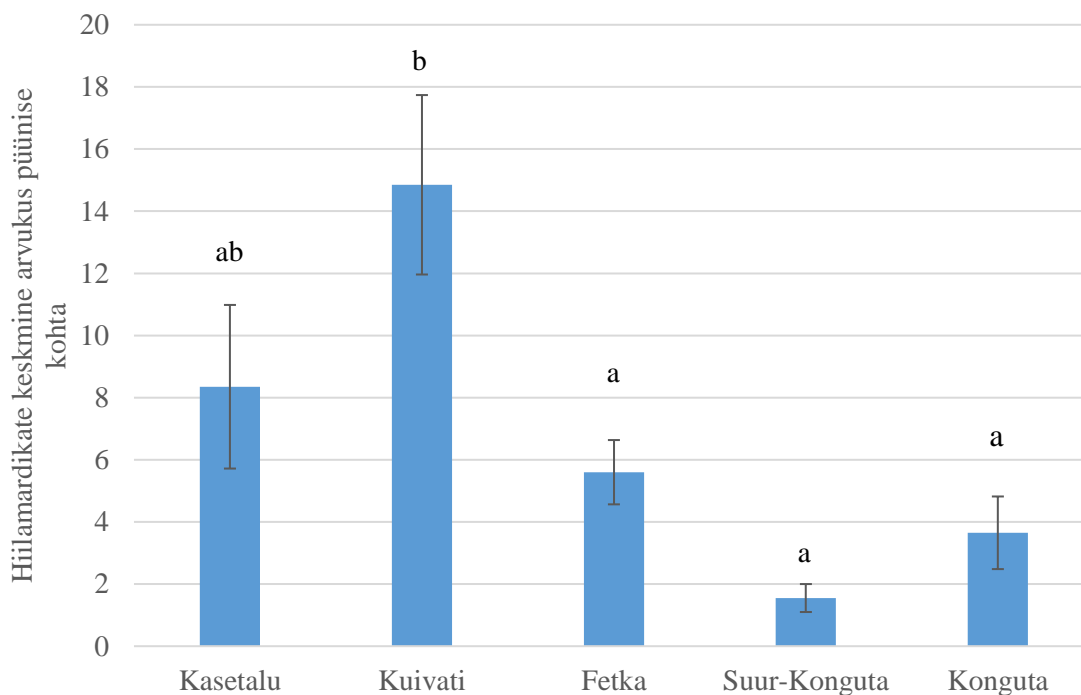
Välitöö kuupäev	Rapsi kasvu- staadiumid kogumise ajal (BBCH)	Hiilamardikate keskmine arvukus lõhnepüünises	Hiilamardikate keskmine arvukus talirapsipõllul taime kohta	Spekulatsioon tõrje- kriteeriumiks lõhnepüünises
22.05.2017	50–58	11,88	0,16	120
24.05.2017	58–59	1,64	0,10	
26.05.2017	58–61	3,16	0,08	
30.05.2017	58–65	10,52	0,16	

Tulenevalt regressioonanalüüsist leiti statistiliselt oluline keskmise tugevusega seos lõhnepüünistest ja taimede raputuskatses kogutud putukate vahel ($R=0,43$; $t=3,16$; $p=0,0029$). Seega võib öelda, et saadud tulemused polnud juhuslikud ja hiilamardikate keskmised arvukused lõhnepüünises olid korrelatsioonis putukate arvukusega rapsipõllul. Sõltuvalt aga mardikate väga madalast keskmisest arvukusest 2017. aastal, eeldavad käesoleva katsega saadud tulemused täiendavate korduskatsete läbiviimist.

3.2.3 Hiilamardikate arvukus katsepõldude lõikes

Et välja selgitada, kas hiilamardikad asustavad lähestikku paiknevaid põlde sarnaselt, võrreldi katses olnud tootmispõlde ka omavahel. Osutus, et põld kui faktor mõjutas oluliselt putukate arvukust nii lõhnapiüünistes (GLZ-test Wald3: $\chi^2_{(4)}=19,04$; $p=0,0008$) (joonis 13) kui raputuskatses (GLZ-test Wald3: $\chi^2_{(4)}=23,60$; $p=0,0001$) (joonis 14).

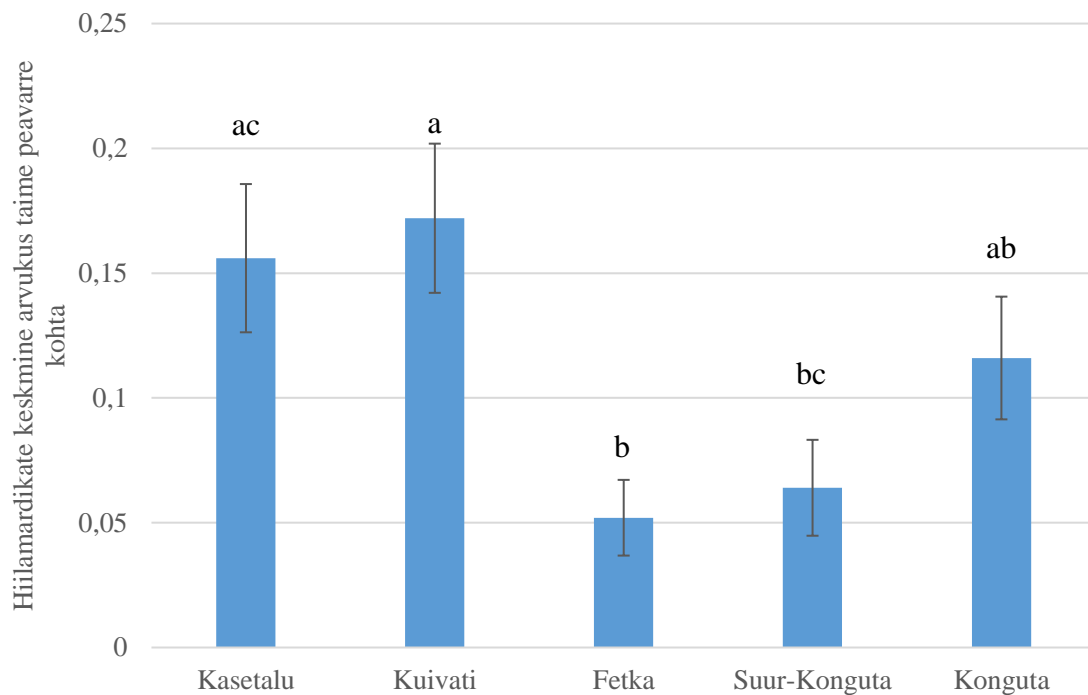
Lõhnapiüünises olid hiilamardikate keskmised arvukused kõrgeimad Kuivati ja Kasetalu põldudel, mille tulemused omavahel oluliselt ei erinenud (Tukey HSD test, $p>0,05$) (joonis 13). Kuivati põllul oli hiilamardikate keskmine arvukus püünise kohta 14,85 ($\pm 2,89$) mardikat ja see erines statistiliselt oluliselt Fetka, Suur-Konguta ja Konguta põldudest (vastavalt $p=0,007$; $p=0,0001$ ja $p=0,0007$). Mardikate arvukus Kasetalu põllul ei erinenud oluliselt ülejäänud põldudest (Tukey HSD test, $p>0,05$).



Joonis 13. Hiilamardikate keskmine ($\pm SE$) arvukus lõhnapiüünise kohta ($N=20$) kõigil katsepõldudel Tartumaal 2017. aastal. Joonisel olevad erinevad tähed märgivad olulist statistilist erinevust põldude vahel (Tukey HSD test, $p<0,05$).

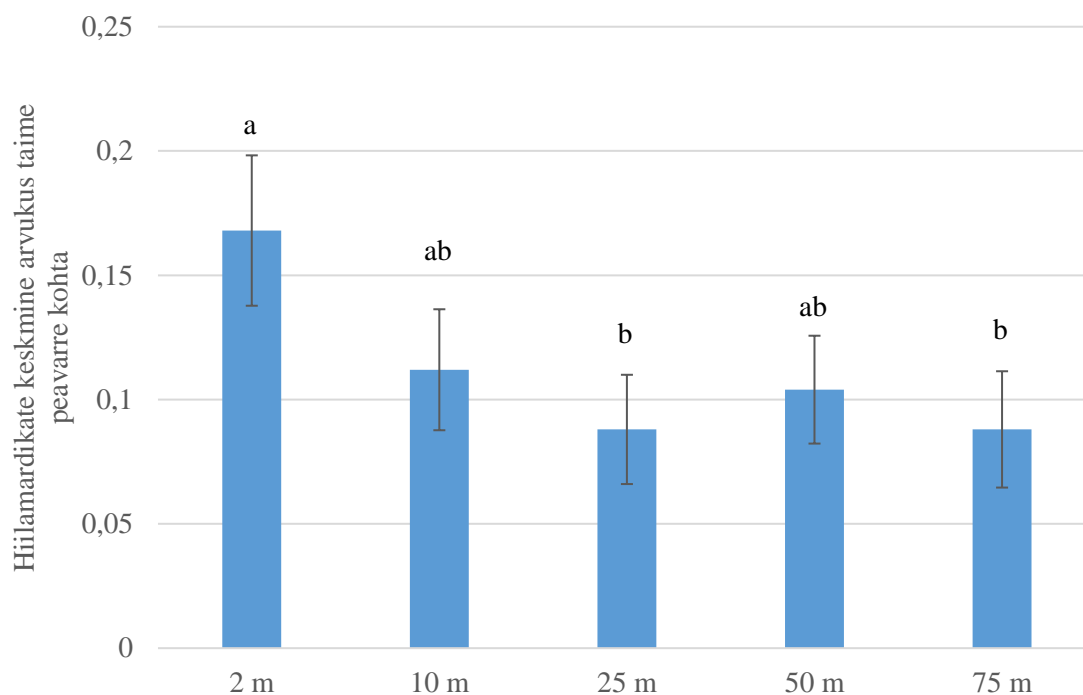
Raputuskatse käigus kogutud hiilamardikate keskmised arvukused olid kogu katseperioodi vältel kõrgeimad Kuivati ($0,17\pm 0,03$) ja Kasetalu ($0,16\pm 0,03$) põldudel, mis sarnanesid

omavahel (Tukey HSD test, $p>0,05$), kuid mille väärtused olid statistiliselt oluliselt erinevad Fetka põllust (Tukey HSD test, vastavalt $p=0,005$ ja $p=0,02$). Kuivati tootmispõld erines oluliselt lisaks Suur-Konguta põllust (Tukey HSD test, $p=0,02$). Mardikate arvukus Konguta põllul ei erinenud ülejäänud põldudest (Tukey HSD test, $p>0,05$) (joonis 14).



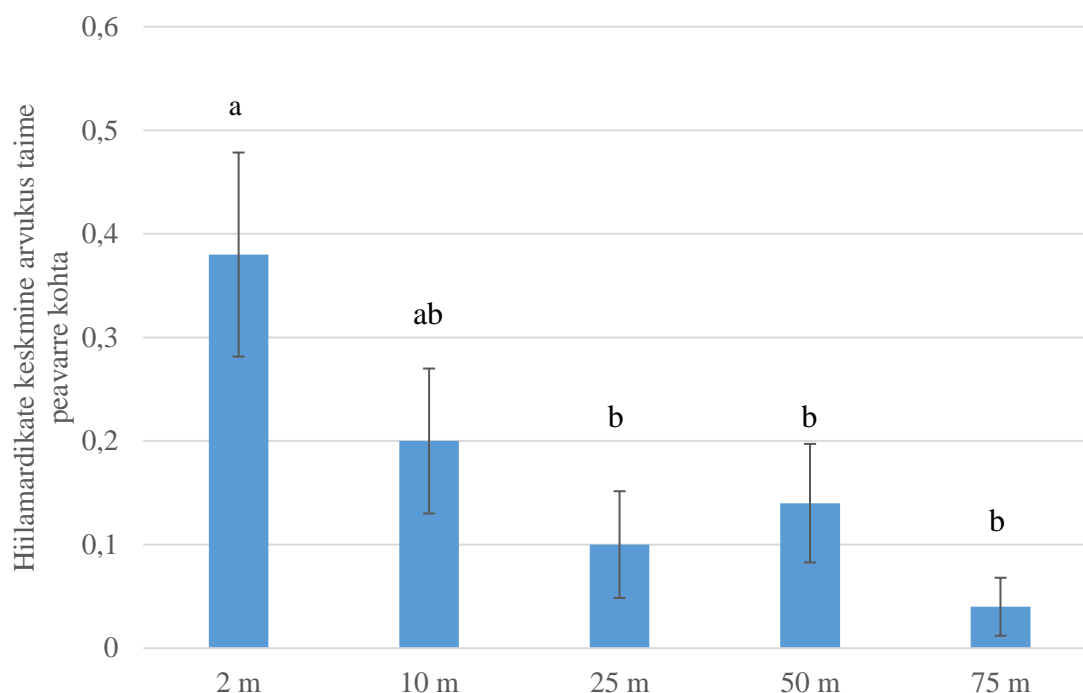
Joonis 14. Hiilamardikate keskmine (\pm SE) arvukus rapsitaimede peavarre kohta ($N=250$) kõigil katsepõldudel Tartumaal 2017. aastal. Joonisel olevad erinevad tähed märgivad olulist statistilist erinevust põldude vahel (Tukey HSD test, $p<0,05$).

Raputuskatse puhul osutus lisaks, et kaugus põlluservast mõjutas mardikate arvukust põllul (GLZ-test Wald3: $\chi^2_{(4)}=9,46$; $p=0,05$) (joonis 15). Hiilamardikate keskmine arvukus oli kõrgeim 2 m ($0,17\pm0,03$) kaugusel põlluservast, mis erines oluliselt 25 ja 75 m kaugusel saadud tulemustest (LSD test, vastavalt $p=0,02$ ja $p=0,02$). Mardikate arvukus põlluservast 10 ja 50 m kaugusel ülejäänud kaugustest statistiliselt oluliselt ei erinenud (LSD test, $p>0,05$).



Joonis 15. Hiilamardikate keskmine (\pm SE) arvukus rapsitaimede peavarre kohta ($N=250$) viie kauguse lõikes kõigil katsepõldudel Tartumaal 2017. aastal. Joonisel olevad erinevad tähed märgivad olulist statistilist erinevust kauguste vahel (LSD test, $p < 0,05$).

Eelnevatest tulemustest selgus, et kaugusel põlluservast oli mõju hiilamardikate keskmisele arvukusele. Seetõttu teostati täiendav analüüs, saamaks teada, kas isendite keskmine arvukus jagunes kõigil vaadeldavatel katsepõldudel ühtlaselt. Selgus, et nii Kasetalu, Fetka, Suur-Konguta kui Konguta tootmispõldudel saadud tulemustes puudusid statistiliselt olulised erinevused kauguste vahel (LSD test, $p > 0,05$) (joonis 16). Seevastu Kuivati põllul oli erinevatel kaugustel mõju hiilamardikate keskmisele arvukusele (GLZ-test Wald3: $\chi^2_{(4)}=16,09$; $p=0,003$). Keskmine arvukus oli Kuivati tootmispõllul kõrgeim 2 m ($0,38 \pm 0,1$) kaugusel põlluservast ja see erines oluliselt 25, 50 ja 75 m kaugusel saadud tulemustest (LSD test, vastavalt $p=0,003$; $p=0,01$ ja $p=0,0003$). Mardikate arvukus 10 m kaugusel põlluservast ei erinenud statistiliselt oluliselt ülejäänud kaugustest (LSD test, $p > 0,05$).



Joonis 16. Hiilamardikate keskmine (\pm SE) arvukus rapsitaimede peavarre kohta ($N=50$) viie kauguse lõikes Tartumaal Kuivati katsepõllul 2017. aastal. Joonisel olevad erinevad tähed märgivad olulist statistilist erinevust kauguste vahel (LSD test, $p<0,05$).

Niisamuti nagu erinevate välitöö kuupäevade puhul, leidis hiilamardikate madal arvukus katseaastal kinnitust ka põldude lõikes. Raputuskatses oli mardikate keskmine arvukus kõrgeim 2 m kaugusel põlluservast asuvas vaatluspunktis, seega taaskord sarnanevad saadud tulemused Free ja Williamsi (1979) omadele, kelle sõnul alustavad hiilamardikad rapsipõllu asustamist servaaladelt ja levivad hiljem põllule. Lõhnapüünistes oli hiilamardikate keskmine arvukus kogu katseperioodi vältel kõrgeim Kuivati talirapsipõllul. Teistel põldudel, mille vahel olulised statistilised erinevused puudusid, oli sama näitaja mõnevõrra madalam. Kõik katsepõllud sarnanesid nii kasvatatava sordi kui agrotehnoloogia poolest, kusjuures taimekaitsevahendeid hiilamardikate tõrjeks ei kasutatud. Samuti paiknesid põllud käesoleval katsealal üksteisele lähedal. Ent kuna põldude valik ei olenenud otseselt maastiku iseloomust, pole välistatud selle mõju mardikate arvukusele, sest on leitud, et nende talvitumisedukus sõltub paiga eri karakteristikutest (suhteline kõrgus, kaugus eelneva aasta rapsipõllust, mulla niiskus, varise paksus jne) (Rusch *et al.* 2012). Seetõttu võib spekuloida, et hiilamardikate arvukus oli Kuivati rapsipõllul kõrgeim põhjusel, et seda ümbritsev maastik pakkus talvitumiseks soodsamaid tingimusi kui mujal. Sellegipoolest vajab antud katse täpsemate tulemuste saamiseks kordamist, sest 2017. aasta ilmastikuolud

olid mardikatele ebasoodsad ning nende talvitumisedukus ja üldine arvukus võrreldes eelnevate aastatega väga madal. Küll aga on antud tulemused tähtsad põhjusel, et need rõhutavad vajadust viia läbi kahjurputukate arvukuse seiret kõikidel põldudel eraldi, niisamuti kui neil, mis paiknevad üksteisega suhteliselt lähestikku.

KOKKUVÕTE

Käesoleva magistritöö eesmärk oli välja töötada usaldusväärne meetodika hiilamardikatega tehtavatele olfaktomeetrilistele katsetele ja seejärel kontrollida, kas taimede töötlemine väljatöötamisel oleva dsRNA preparaadiga mõjutab hiilamardikate käitumist. Lisaks oli antud töö eesmärgiks selgitada välja lõhnapüünise sobivus hiilamardikate arvukuse seiramiseks talirapsipõllul Eesti tingimustes (tõrjekriteeriumi määramise eesmärgil).

Antud magistritöö tulemustest selgus, et olfaktomeetria katse tulemused sõltusid mitmetest faktoritest (nt katseobjektide soost, nälgimisajast jms) ja varieerusid oluliselt. Seega on vajalik silmas pidada, et põhikatse õigsust ja õnnestumist tuleks alati usaldusväärsete kontrolltestidega kinnitada. Näiteks osutus, et neutraalses katses puhta õhuga väljendus naeri-hiilamardika isastel isenditel paremakäelisus samal ajal, kui emastel kummagi suuna suhtes eelistusi polnud. Seetõttu võiks spekuloida, et jättes hiilamardika isendite soo määramata, oleks mõne katsevariandi õnnestumine või vastupidi ebaõnnestumine põhjustatud just isaste paremakäelisuse tõttu. Üldiselt võib kõigi katsevariantide hulga kontrollina soovitada emastele neutraalset katset puhta õhuga ja positiivset katset hariliku tõlkjaga, kui isendid on olnud söömata vähemalt 72 tundi. Negatiivse kontrollina sobib mõlemast soost isenditele katse lavendliõliga ja seda ka juhul, kui katseobjektide sugu on eelnevalt määramata.

Pärast naeri-hiilamardika mõlemale soole sobivate kontrollkatsete leidmist viidi olfaktomeetritega läbi katse RNAi tehnoloogia abil väljatöötamisel oleva dsRNA preparaadiga, millest osutus, et preparaadil puudus mõju hiilamardikate lõhnakäitumisele. Testides dsRNA preparaati, oli teostatud eksperimendi puhul tegemist aga esimese taolise katsega naeri-hiilamardikatega ja seetõttu eeldab antud tehnoloogia kasutuselevõtt ka erinevate käitumislake uuringute läbiviimist.

Töö teises osas teostati pilootkatse lõhnapüüniste sobivuse testimiseks Eesti tingimustes talirapsipõldudel hiilamardikate arvukuse seiramiseks ja tõrjekriteeriumi määramiseks. Leiti, et kuigi püünised ei olnud rangelt selektiivsed ainult hiilamardikatele, vaid meelitasid

ligi ka teisi putukarühmi, on püüinised siiski lihtsalt rakendatavad ja hõlbustaksid taimekasvatajatel mardikate arvukuse ja kohaoleku hindamist. Paraku oli katseaasta hiilamardikatele ebasoodne, st nende arvukus oli talirapsipõldudel väga madal ja seega tõrjekriteeriumit katses olnud tootmispõldudel ei ületatud. Sellegipoolest oli täheldatav oluline keskmise tugevusega seos lõhnapiüünistest ja taimede raputuskatses kogutud mardikate vahel.

Hiilamardikate arvukust lõhnapiüünistes ja raputuskatses mõjutasid oluliselt rapsitaimede kasvustaadium ja ilmastikutingimused. Kõige arvukamalt leiti hiilamardikaid 22. mail, millest vahetult enne, rapsitaimede roheline punga faasis, oli alanud nende suurem levik rapsipõldudele. Pärast seda langes arvukus tõenäoliselt ebasoodsate migratsioonitingimuste tõttu (madal õhutemperatuur ja kõrge sademete hulk). Hiilamardikate arvukus tõusis taas 30. mail, kui lisaks soodsatele ilmastikuoludele jõudis raps täisõitsemise kasvufaasi, soodustades mardikate levikut ka kaugematelt distantidelt. Osutus, et mardikate arvukust mõjutas oluliselt ka tootmispõld. Nii lõhnapiüünistes kui põllul teostatud raputuskatses oli hiilamardikate arvukus kõrgeim Kuivati talirapsipõllul ning sõltumata selle lähedusest ülejäänud põldudega, jäi teistel antud väärtus mõnevõrra madalamaks. Seega on saadud tulemuste põhjal oluline rõhutada, et kuigi eelduste kohaselt võiksid putukad üksteisele lähestikku paiknevaid põlde asustada sarnaselt, leiti antud töös, et hiilamardikate arvukus katsepõldudel erines oluliselt. Seega tuleb kahjurite arvukust kõigil põldudel hinnata individuaalselt, et olla kindel tõrje vajalikkuses ja järgida keskkonnasõbralikku integreeritud taimekaitse strateegiat.

BEHAVIOURAL BIOASSAYS WITH POLLEN BEETLES AND TESTING ODOUR-BAITED TRAPS FOR MONITORING POLLEN BEETLE ABUNDANCE

Summary

One of the aims of this study was to find an appropriate method for olfactometric experiments in order to examine whether the dsRNA product, which is currently under development as an alternative control method against pollen beetles, changes the host searching behaviour of pollen beetles. The other objective of this work was to study the suitability of the odour-baited traps for monitoring the abundance of pollen beetles in winter oilseed rape under Estonian climate conditions.

According to the results of this master's thesis, the results of the olfactometric experiment varied depending on a number of factors, for example the sex of the beetle and duration of starvation before the experiment. During the neutral experiment without any odours affecting the behaviour of the insects, male pollen beetles expressed a slight right directional bias, however, females had no preferences in either direction (left or right). Therefore, to get accurate results, it is important to determine the sex of pollen beetles. Out of all test variants, a neutral test with clean air and a positive test with *Bunias orientalis* L. (Turkish rocket or warty cabbage) may be recommended as a control for experiments with females, if the specimen has been starved for at least 72 hours. As a negative control, lavender oil was suitable for specimens of both sexes, therefore it can be recommended even if the subject's sex is not predetermined.

Having found several accurate options for control tests for both sexes, the next step was to test the effect of the dsRNA product. According to the results the dsRNA product did not have any significant effect on the odour preference of pollen beetles. Using the dsRNA product that is currently under development through RNAi technology, made this experiment carried out with pollen beetles the first of its kind, and therefore further research

is required to test the effect of this product, before it could be recommended for pest control.

According to the results of the odour-baited trap experiment carried out as the second part of the work, it could be argued that the traps could be suitable for monitoring the abundance of pollen beetles in Estonia and for determining threshold levels for pest control. Although the traps were not selectively attractive to the pollen beetle alone, the traps are a simply applicable method that would allow plant growers to evaluate the abundance and presence of the beetles using less input. In general, 2017 was an unsuitable year for the study, because pollen beetle abundance was low, staying well below the economic threshold throughout the damage susceptible stage of oilseed rape development in all observed fields. Nevertheless, an important link was found between the number of beetles, the meteorological conditions and the growth stages of the oilseed rape plants.

The sampling date had a significant effect on the abundance of pollen beetles. The greatest number of pollen beetles were found on May 22, which was shortly after the beginning of the green bud stage, the start of their migration to the oilseed rape fields. After that their abundance decreased, probably due to unfavourable weather conditions for migration (low temperature and high precipitation). The abundance of pollen beetles increased again on May 30, when, in addition to favourable weather conditions, oilseed rape had reached its full flowering stage, possibly attracting beetles also from locations farther away. Despite the study fields being close to each other, field as a factor had also a significant effect on the abundance of pollen beetles. In the odour-baited trap samples as well as during the in-field monitoring, the abundance of pollen beetles was the highest in the “Kuivati” winter oilseed rape field, regardless of its close proximity to the rest of the experimental fields. This result emphasizes the necessity to monitor beetle abundance in every field even if they are close to each other, in order to verify the need for insecticide treatment and to follow an environmentally-friendly integrated plant protecting strategy.

KASUTATUD KIRJANDUS

- Ahuja, I., Rohloff, J., Bones, A.M.** (2010). Defence mechanisms of Brassicaceae: implications for plant-insect interactions and potential for integrated pest management. A review. – *Agronomy for Sustainable Development*, Vol. 30, No. 2, pp. 311–348.
- Alford, D.V., Nilsson, C., Ulber, B.** (2003). Insect Pests of Oilseed Rape Crops. – *Biocontrol of Oilseed Rape Pests*. /Ed. Alford, D.V. Blackwell Science Ltd, Oxford, UK, pp. 9–42.
- Allen, M.L.** (2017). Comparison of RNAi Sequences in Insect-Resistant Plants to Expressed Sequences of a Beneficial Lady Beetle: A Closer Look at Off-Target Considerations. – *Insects*, Vol. 8, No. 1.
- Arras, G.** (2017). Naeri-hiilamardika (*Brassicogethes aeneus*) talvitunud ja uue põlvkonna arvukuse erinevused ja nende toidutaimede eelistused. Magistritöö. Põllumajandus- ja keskkonna-instituut. 54 lk.
- Audisio, P., Cline, A.R., De Biase, A., Antonini, G., Mancini, E., Trizzino, M., Costantini, L., Strika, S., Lamanna, F., Cerretti, P.** (2009). Preliminary re-examination of genus-level taxonomy of the pollen beetle subfamily Meligethinae (Coleoptera: Nitidulidae). – *Acta Entomologica Musei Nationalis Pragae*, Vol. 49, No. 2, pp. 341–504.
- Barzman, M., Bårberi, P., Birch, A.N.E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel, B., Jensen, J.E., Kiss, J., Kudsk, P., Lamichhane, J.R., Messéan, A., Moonen, A.C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J.L., Sattin, M.** (2015). Eight principles of integrated pest management. – *Agronomy for Sustainable Development*, Vol. 35, No. 4, pp. 1199–1215.
- Bautista, M.A.M., Miyata, T., Miura, K., Tanaka, T.** (2009). RNA interference-mediated knockdown of a cytochrome P450, CYP6BG1, from the diamondback moth, *Plutella xylostella*, reduces larval resistance to permethrin. – *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 39, No. 1, pp. 38–46.
- Billqvist, A., Ekbom, B.** (2001). Effects of host plant species on the interaction between the parasitic wasp *Diospilus capito* and pollen beetles (*Meligethes* spp.). – *Agricultural and Forest Entomology*, Vol. 3, No. 2, pp. 147–152.
- Blight, M.M., Smart, L.E.** (1999). Influence of Visual Cues and Isothiocyanate Lures on Capture of the Pollen Beetle, *Meligethes aeneus* in Field Traps. – *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 25, No. 7, pp. 1501–1516.
- Borg, A.** (1996). Oviposition behaviour of two pollen beetles (*Meligethes aeneus* and *M. viridescens*) on different host plants. – *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae Agraria*.

- Büchi, R.** (2002). Mortality of pollen beetle (*Meligethes* spp.) larvae due to predators and parasitoids in rape fields and the effect of conservation strips. – *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Vol. 90, No. 3, pp. 255–263.
- Cao, Y., Li, S., Benelli, G., Germinara, G.S., Yang, J., Yang, W., Li, C.** (2018). Olfactory responses of *Stegobium paniceum* to different Chinese medicinal plant materials and component analysis of volatiles. – *Journal of Stored Products Research*, Vol. 76, pp. 122–128.
- Cook, S.M., Bartlett, E., Murray, D.A., Williams, I.H.** (2002). The role of pollen odour in the attraction of pollen beetles to oilseed rape flowers. – *Proceedings of the 11th International Symposium on Insect-Plant Relationships*. /Eds. Nielsen, J.K., Kjær, C., Schoonhoven, L.M. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 43–50.
- Cook, S.M., Denholm, I.** (2008). Ecological approaches to the control of pollen beetles in oilseed rape. – *EPPO Bulletin*, Vol. 38, No. 1, pp. 110–113.
- Cook, S.M., Khan, Z.R., Pickett, J.A.** (2007a). The Use of Push-Pull Strategies in Integrated Pest Management. – *Annual Review of Entomology*, Vol. 52, No. 1, pp. 375–400.
- Cook, S.M., Rasmussen, H.B., Birkett, M.A., Murray, D.A., Pye, B.J., Watts, N.P., Williams, I.H.** (2007b.) Behavioural and chemical ecology underlying the success of turnip rape (*Brassica rapa*) trap crops in protecting oilseed rape (*Brassica napus*) from the pollen beetle (*Meligethes aeneus*). – *Arthropod-Plant Interactions*, Vol. 1, No. 1, pp. 57–67.
- Cook, S.M., Skellern, M.P., Döring, T.F., Pickett, J.A.** (2013). Red oilseed rape? The potential for manipulation of petal colour in control strategies for the pollen beetle (*Meligethes aeneus*). – *Arthropod-Plant Interactions*, Vol. 7, No. 3, pp. 249–258.
- Crops. (andmed uuendatud november 2016) – *FAOSTAT*. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (18.04.2018).
- Dobson, H.E.M.** (1994). Floral volatiles in insect biology. – *Insect-Plant Interactions*. /Ed. Bernays, E. CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 47–81.
- Dobson, H.E.M., Groth, I., Bergström, G.** (1996). Pollen advertisement: Chemical contrasts between whole-flower and pollen odors. – *American Journal of Botany*, Vol. 83, pp. 877–885.
- Döring, T.F., Skellern, M., Watts, N., Cook, S.M.** (2012). Colour choice behaviour in the pollen beetle *Meligethes aeneus* (Coleoptera: Nitidulidae). – *Physiological Entomology*, Vol. 37, No. 4, pp. 360–378.
- Eigenbrode, S.D., Birch, A.N.E., Lindzey, S., Meadow, R., Snyder, W.E.** (2016). Review: A mechanistic framework to improve understanding and applications of push-pull systems in pest management. – *Journal of Applied Ecology*, Vol. 53, No. 1, pp. 202–212.
- Evans, K.A., Allen-Williams, L.J.** (1994). Laboratory and field response of the pollen beetle, *Meligethes aeneus*, to the odour of oilseed rape. – *Physiological Entomology*, Vol. 19, No. 4, pp. 285–290.

- Ferguson, A.W., Nevard, L.M., Clark, S.J., Cook, S.M.** (2015). Temperature-activity relationships in *Meligethes aeneus*: implications for pest management. – *Pest Management Science*, Vol. 71, No. 3, pp. 459–466.
- Free, J.B., Williams, I.H.** (1978). The Responses of the Pollen Beetle, *Meligethes aeneus*, and the Seed Weevil, *Ceuthorrhynchus assimilis*, to Oil-Seed Rape, *Brassica napus*, and Other Plants. – *Journal of Applied Ecology*, Vol. 15, No. 3, pp. 761–774.
- Free, J.B., Williams, I.H.** (1979). The distribution of insect pests on crops of oil-seed rape (*Brassica napus* L.) and the damage they cause. – *The Journal of Agricultural Science*, Vol. 92, pp. 139–149.
- Giamoustaris, A., Mithen, R.** (1996). The effect of flower colour and glucosinolates on the interaction between oilseed rape and pollen beetles. – *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Vol. 80, No. 1, pp. 206–208.
- Hansen, L.M.** (2003). Insecticide-resistant pollen beetles (*Meligethes aeneus* F) found in Danish oilseed rape (*Brassica napus* L) fields. – *Pest Management Science*, Vol. 59, No. 9, pp. 1057–1059.
- Hervé, M.R., Garcia, N., Trabalon, M., Ralec, A.L., Delourme, R., Cortesero, A.M.** (2015). Oviposition Behavior of the Pollen Beetle (*Meligethes aeneus*): A Functional Study. – *Journal of Insect Behavior*, Vol. 28, No. 2, pp. 107–119.
- Hiisaar, K., Kuusik, A., Lauk, Ü., Luik, A., Metspalu, L.** (2002). Ristõieliste kultuuride kahjurid. Tartu: Bookmill. 102 lk.
- Hokkanen, H.M.T.** (1991). Trap Cropping in Pest Management. – *Annual Review of Entomology*, Vol. 36, No. 1, pp. 119–138.
- Hokkanen, H.M.T.** (2000). The making of a pest: recruitment of *Meligethes aeneus* onto oilseed Brassicas. – *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Vol. 95, No. 2, pp. 141–149.
- Huvenne, H., Smagghe, G.** (2010). Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: A review. – *Journal of Insect Physiology*, Vol. 56, No. 3, pp. 227–235.
- Joga, M.R., Zotti, M., Smagghe, G., Christiaens, O.** (2016). RNAi Efficiency, Systemic Properties, and Novel Delivery Methods for Pest Insect Control: What We Know So Far. – *Frontiers in Physiology*, Vol. 7.
- Jönsson, M., Rosdahl, K., Anderson, P.** (2007). Responses to olfactory and visual cues by overwintered and summer generations of the pollen beetle, *Meligethes aeneus*. – *Physiological Entomology*, Vol. 32, No. 2, pp. 188–193.
- Kaasik, R., Kovács, G., Toome, M., Metspalu, L., Veromann, E.** (2014). The relative attractiveness of *Brassica napus*, *B. rapa*, *B. juncea* and *Sinapis alba* to pollen beetles. – *BioControl*, Vol. 59, No. 1, pp. 19–28.
- Khan, Z.R., Pickett, J.A.** (2008). Push-Pull Strategy for Insect Pest Management. – *Springer*, pp. 3074–3082.

- Kim, D.H., Rossi, J.J.** (2008). RNAi mechanisms and applications. – *BioTechniques*, Vol. 44, No. 5, pp. 613–616.
- Kirk-Spriggs, A.H.** (1996). Pollen Beetles: Coleoptera: Kateretidae and Nitidulidae: Meligethinae. – *Royal Entomological Society of London*. 157 p.
- Lancashire, P.D., Bleiholder, H., Boom, T.V.D., Langelüddeke, P., Stauss, R., Weber, E., Witzemberger, A.** (1991). A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. – *Annals of Applied Biology*, Vol. 119, No. 3, pp. 561–601.
- Marczali, Z., Nádasy, M.** (2006). Wintering characteristic of the *Meligethes* species in Hungary. – *Journal of Central European Agriculture*, Vol. 7, No. 2, pp. 283–288.
- Mauchline, A.L., Cook, S.M., Powell, W., Chapman, J.W., Osborne, J.L.** (2017). Migratory flight behaviour of the pollen beetle *Meligethes aeneus*. – *Pest Management Science*, Vol. 73, No. 6, pp. 1076–1082.
- Mauchline, A.L., Cook, S.M., Powell, W., Osborne, J.L.** (2013). Effects of non-host plant odour on *Meligethes aeneus* during immigration to oilseed rape. – *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Vol. 146, No. 3, pp. 313–320.
- Mauchline, A.L., Osborne, J.L., Martin, A.P., Poppy, G.M., Powell, W.** (2005). The effects of non-host plant essential oil volatiles on the behaviour of the pollen beetle *Meligethes aeneus*. – *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Vol. 114, No. 3, pp. 181–188.
- Metspalu, L., Veromann, E., Kaasik, R., Kovacs, G., Williams, I.H., Mänd, M.** (2015). Comparison of sampling methods for estimating the abundance of *Meligethes aeneus* on oilseed crops. – *International Journal of Pest Management*, pp. 1–8.
- Metspalu, L., Williams, I.H., Jõgar, K., Ploomi, A., Hiiesaar, K., Lääniste, P., Švilponis, E., Mänd, M., Luik, A.** (2011). Distribution of *Meligethes aeneus* (F.) and *M. viridescens* (F.) on cruciferous plants. – *Zemdirbyste-Agriculture*, Vol. 98, No. 1, pp. 27–34.
- Nauen, R., Zimmer, C.T., Andrews, M., Slater, R., Bass, C., Ekbom, B., Gustafsson, G., Hansen, L.M., Kristensen, M., Zebitz, C.P.W., Williamson, M.S.** (2012). Target-site resistance to pyrethroids in European populations of pollen beetle, *Meligethes aeneus* F. – *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 103, No. 3, pp. 173–180.
- Nilsson, C.** (1987). Yield losses in summer rape caused by pollen beetles (*Meligethes* spp.). – *Swedish Journal of Agronomy Research*, Vol. 17, pp. 105–111.
- Pavela, R.** (2011). Insecticidal and repellent activity of selected essential oils against of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* (Fabricius) adults. – *Industrial Crops and Products*, Vol. 34, No. 1, pp. 888–892.
- Petraitiene, E., Brazauskiene, I., Šmatas, R., Makunas, V.** (2008). The spread of pollen beetles (*Meligethes aeneus*) in spring oilseed rape (*Brassica napus*) and the efficacy of pyrethroids. – *Zemdirbyste*, Vol. 95, pp. 344–352.

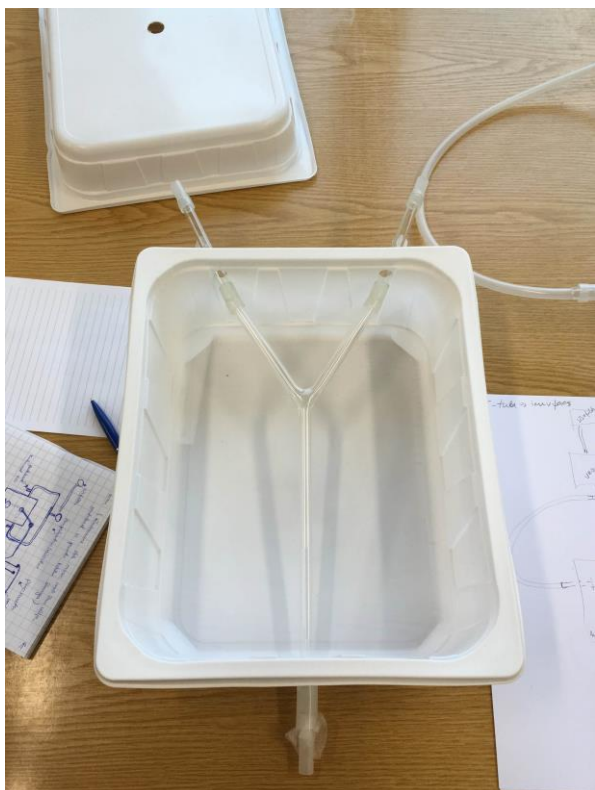
- Pickett, J.A., Wadhams, L.J., Woodcock, C.M.** (1997). Developing sustainable pest control from chemical ecology. – *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Vol. 64, No. 2, pp. 149–156.
- Pickett, J.A., Woodcock, C.M., Midega, C.A., Khan, Z.R.** (2014). Push-pull farming systems. – *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 26, pp. 125–132.
- Piesik, D., Delaney, K., Wenda-Piesik, A., Sendel, S., Tabaka, P., Buszewski, B.** (2013). *Meligethes aeneus* pollen-feeding suppresses, and oviposition induces, *Brassica napus* volatiles: Beetle attraction/repellence to lilac aldehydes and veratrole. – *Chemoecology*, Vol. 23.
- PM031: Põllukultuuride kasvupind maakonna järgi. (andmed uuendatud 29.03.2018) – *Eesti Statistika andmebaas*. <http://pub.stat.ee/> (18.04.2018).
- Poelchau, M.F., Coates, B.S., Childers, C.P., Pérez de León, A.A., Evans, J.D., Hackett, K., Shoemaker, D.** (2016). Agricultural applications of insect ecological genomics. – *Current Opinion in Insect Science*, Vol. 13, pp. 61–69.
- Riigi Ilmateenistus. (2018a). Ilm. Ilmavaatlused. Vaatlusandmed. <https://www.ilmateenistus.ee/ilm/ilmavaatlused/vaatlusandmed/> (20.04.2018).
- Riigi Ilmateenistus. (2018b). Kliima. Kuukokkuvõtted. <https://www.ilmateenistus.ee/kliima/kuukokkuvotted/> (20.04.2018).
- Rusch, A., Valantin-Morison, M., Roger-Estrade, J., Sarthou, J.P.** (2012). Local and landscape determinants of pollen beetle abundance in overwintering habitats. – *Agricultural and Forest Entomology*, Vol. 14, No. 1, pp. 37–47.
- Ruther, J., Thiemann, K.** (1997). Response of the pollen beetle *Meligethes aeneus* to volatiles emitted by intact plants and conspecifics. – *Entomologia Experimentalis et Applicata*, Vol. 84, No. 2, pp. 183–188.
- Senthil-Kumar, M., Mysore, K.S.** (2010). RNAi in plants: recent developments and applications in agriculture. – *Gene silencing: theory, techniques and applications*. /Ed. Catalano, A.-J. Nova Science Publishers, Hauppauge, New York, pp. 183–199.
- Shelton, A.M., Badenes-Perez, F.R.** (2006). Concepts and Applications of Trap Cropping in Pest Management. – *Annual Review of Entomology*, Vol. 51, No. 1, pp. 285–308.
- Skellern, M.P., Welham, S.J., Watts, N.P., Cook, S.M.** (2017). Meteorological and landscape influences on pollen beetle immigration into oilseed rape crops. – *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Vol. 241, pp. 150–159.
- Slater, R., Ellis, S., Genay, J.P., Heimbach, U., Huart, G., Sarazin, M., Longhurst, C., Müller, A., Nauen, R., Rison, J.L., Robin, F.** (2011). Pyrethroid resistance monitoring in European populations of pollen beetle (*Meligethes* spp.): a coordinated approach through the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). – *Pest Management Science*, Vol. 67, No. 6, pp. 633–638.

- Smart, L.E., Blight, M.M.** (2000). Response of the Pollen Beetle, *Meligethes aeneus*, to Traps Baited with Volatiles from Oilseed Rape, *Brassica napus*. – *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 26, No. 4, pp. 1051–1064.
- Stelinski, L., Tiwari, S.** (2013). Vertical T-maze Choice Assay for Arthropod Response to Odorants. – *Journal of Visualized Experiments*.
- Tenllado, F., Llave, C., Díaz-Ruiz, J.R.** (2004). RNA interference as a new biotechnological tool for the control of virus diseases in plants. – *Virus Research*, Vol. 102, No. 1, pp. 85–96.
- Terenius, O., Papanicolaou, A., Garbutt, J.S., Eleftherianos, I., Huvenne, H., Kanginakudru, S., Albrechtsen, M., An, C., Aymeric, J.L., Barthel, A., Bebas, P., Bitra, K., Bravo, A., Chevalier, F., Collinge, D.P., Crava, C.M., de Maagd, R.A., Duvic, B., Erlandson, M., Faye, I., Felföldi, G., Fujiwara, H., Futahashi, R., Gandhe, A.S., Gatehouse, H.S., Gatehouse, L.N., Giebertowicz, J.M., Gómez, I., Grimmekhuijzen, C.J.P., Groot, A.T., Hauser, F., Heckel, D.G., Hegedus, D.D., Hrycaj, S., Huang, L., Hull, J.J., Iatrou, K., Iga, M., Kanost, M.R., Kotwica, J., Li, C., Li, J., Liu, J., Lundmark, M., Matsumoto, S., Meyering-Vos, M., Millichap, P.J., Monteiro, A., Mrinal, N., Niimi, T., Nowara, D., Ohnishi, A., Oostra, V., Ozaki, K., Papakonstantinou, M., Popadic, A., Rajam, M.V., Saenko, S., Simpson, R.M., Soberón, M., Strand, M.R., Tomita, S., Toprak, U., Wang, P., Wee, C.W., Whyard, S., Zhang, W., Nagaraju, J., Ffrench-Constant, R.H., Herrero, S., Gordon, K., Swevers, L., Smagghe, G.** (2011). RNA interference in Lepidoptera: An overview of successful and unsuccessful studies and implications for experimental design. – *Journal of Insect Physiology*, Vol. 57, No. 2, pp. 231–245.
- Turner, C.T., Davy, M.W., MacDiarmid, R.M., Plummer, K.M., Birch, N.P., Newcomb, R.D.** (2006). RNA interference in the light brown apple moth, *Epiphyas postvittana* (Walker) induced by double-stranded RNA feeding. – *Insect Molecular Biology*, Vol. 15, No. 3, pp. 383–391.
- Veromann, E., Luik, A., Metspalu, L., Williams, I.** (2006). Key pests and their parasitoids on spring and winter oilseed rape in Estonia. – *Entomologica Fennica*, Vol. 17, No. 4, pp. 400–404.
- Veromann, E., Metspalu, L., Williams, I.H., Hiisaar, K., Mand, M., Kaasik, R., Kovacs, G., Jogar, K., Svilponis, E., Kivimagi, I., Ploomi, A., Luik, A.** (2012). Relative attractiveness of *Brassica napus*, *Brassica nigra*, *Eruca sativa* and *Raphanus sativus* for pollen beetle (*Meligethes aeneus*) and their potential for use in trap cropping. – *Arthropod-Plant Interactions*, Vol. 6, No. 3, pp. 385–394.
- Veromann, E., Tarang, T., Kevvai, R., Luik, A., Williams, I.** (2006). Insect pests and their natural enemies on spring oilseed rape in Estonia: impact of cropping systems. – *Agricultural and Food Science*, Vol. 15, No. 1, pp. 61–72.

- Whyard, S., Singh, A.D., Wong, S.** (2009). Ingested double-stranded RNAs can act as species-specific insecticides. – *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 39, No. 11, pp. 824–832.
- Williams, I.** (2004). Advances in Insect Pest Management of Oilseed Rape in Europe. – *Insect Pest Management*. /Eds. Horowitz, P.D.A.R., Ishaaya, P.D.I. Springer Berlin, Heidelberg, pp. 181–208.
- Williams, I.H.** (2010). The Major Insect Pests of Oilseed Rape in Europe and Their Management: An Overview. – *Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests*. /Ed. Williams, I.H. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1–43.
- Williams, I.H., Cook, S.M.** (2010). Crop Location by Oilseed Rape Pests and Host Location by Their Parasitoids. – *Biocontrol-Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests*. /Ed. Williams, I.H. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 215–244.
- Williams, I.H., Free, J.B.** (1978). The feeding and mating behaviour of pollen beetles (*Meligethes aeneus* Fab.) and seed weevils (*Ceutorhynchus assimilis* Payk.) on oil-seed rape (*Brassica napus* L.). – *The Journal of Agricultural Science*, Vol. 91, No. 2, pp. 453–459.
- Younis, A., Siddique, M.I., Kim, C.K., Lim, K.B.** (2014). RNA Interference (RNAi) Induced Gene Silencing: A Promising Approach of Hi-Tech Plant Breeding. – *International Journal of Biological Sciences*, Vol. 10, No. 10, pp. 1150–1158.
- Zhang, H., Li, H.C., Miao, X.X.** 2013. Feasibility, limitation and possible solutions of RNAi-based technology for insect pest control. – *Insect Science*, Vol. 20, No. 1, pp. 15–30.
- Zhao, Y.Y., Liu, F., Yang, G., You, M.S.** (2011). PsOr1, a potential target for RNA interference-based pest management. – *Insect Molecular Biology*, Vol. 20, pp. 97–104.
- Zotti, M.J., Smagghe, G.** (2015). RNAi Technology for Insect Management and Protection of Beneficial Insects from Diseases: Lessons, Challenges and Risk Assessments. – *Neotropical Entomology*, Vol. 44, No. 3, pp. 197–213.

LISAD

Lisa 1. Olfaktomeetria katses kasutatud olfaktomeetrid (vastavalt T- ja Y-olfaktomeeter) (fotod: Triin Lõhmus, Kätlyn Kaart)



Lisa 2. Lõhnepüüuise katses kasutatud lõhnepüüuine (foto: Triin Lõhmus)



Lisa 3. Lõhnepüünise katse lõhnepüüniste ja raputuskatse vaatluspunktide asukohad katsepõllul



Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks (tähtajaline piirang) ning juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Mina, Triin Lõhmus,
sünniaeg 02.11.1994,

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö Naeri-hiilamardika (*Brassicogethes aeneus*) lõhnaelistuste käitumiskatse ja lõhnapiüünise tõhusus,
mille juhendajad on Eve Veromann ja Gabriella Kovács,

- 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
- 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
- 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemiseks pärast tähtajalise piirangu lõppemist

kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor

allkiri

Tartu, 21.05.2018

Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta

Luban lõputöö kaitsmisele.

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)

(juhendaja nimi ja allkiri)

(kuupäev)